

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 28.11.22.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 31.05.24 Bulletin 24/22.

56 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

71 Demandeur(s) : IFP Energies nouvelles Etablissement
public — FR.

72 Inventeur(s) : ARAGONES Matthieu, COUDERC
Sophie et FERSCHNEIDER Gilles.

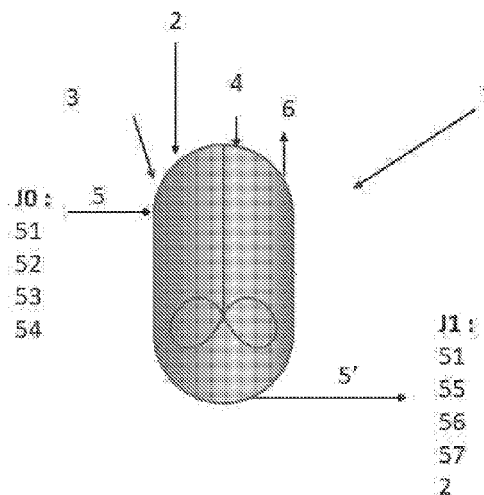
73 Titulaire(s) : IFP Energies nouvelles Etablissement
public.

54 ~~Procédé de~~ traitement d'un mélange en phase
aqueuse de composés comprenant des sucres à 5
et 6 atomes de carbone.

57 L'invention concerne un procédé de traitement d'un mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 (51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones et dont la teneur en poids de sucres C5 est supérieure à la teneur en poids de sucres C6, tel qu'on met en contact ledit mélange en phase aqueuse avec un micro-orga-

nisme (2) ne consommant, parmi les sucres du mélange, essentiellement que les sucres C6, afin d'obtenir un mélange appauvri en sucres C6

Figure pour l'abrégé : Fig. 1



Description

Titre de l'invention : Procédé de traitement d'un mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres à 5 et 6 atomes de carbone.

Domaine technique

- [0001] La présente invention concerne le traitement de jus sucrés, notamment ceux dits de seconde génération (2G), qu'on peut obtenir à partir de biomasse lignocellulosique.
- Ces jus sucrés peuvent être utilisés pour produire d'autres produits par voie chimique ou biochimique (par exemple des alcools comme l'éthanol, le butanol, ou d'autres molécules, par exemple des solvants tels que l'acétone, des produits intermédiaires utilisés dans l'industrie chimique, etc...), notamment en tant que substituts de dérivés pétrochimiques.

Technique antérieure

- [0002] La biomasse lignocellulosique représente une des ressources renouvelables les plus abondantes sur terre. Les substrats considérés sont très variés, ils concernent à la fois des substrats ligneux comme différents bois (feuillus et résineux), des coproduits issus de l'agriculture (pailles de blé, rafles de maïs, etc...) ou d'autres industries, comme l'industrie agroalimentaire, papetière, etc...
- [0003] Différents types de procédés existent pour convertir la biomasse lignocellulosique en jus sucrés selon le type de biomasse. S'il s'agit de plantes saccharifères (la betterave sucrière, la canne à sucre), de plantes amylacées (le maïs et le blé), on obtient des jus sucrés dits de première génération (1G), par exemple par des opérations d'extraction.
- [0004] S'il s'agit de biomasse de type résidus agricoles, forestiers, papetiers, on obtient des jus sucrés dits de seconde génération (2G) par un procédé de transformation biochimique qui comprend généralement une étape de prétraitement et une étape d'hydrolyse enzymatique par un cocktail enzymatique. Le prétraitement comporte le plus souvent une étape d'imprégnation par une liqueur acide ou basique ou oxydante, puis une cuisson de la biomasse imprégnée qui est éventuellement accompagnée d'une explosion à la vapeur.
- Les jus sucrés issus de l'hydrolyse peuvent ensuite être traités, par exemple par fermentation pour les convertir en alcool, et le procédé comprend également des étapes de séparation et/ou de purification.
- [0005] Ces jus sucrés peuvent également provenir d'un mélange de jus sucrés provenant de différents types de biomasse.
- [0006] La biomasse lignocellulosique est composée de trois principaux polymères : la cellulose (35 à 50% poids), qui est un polysaccharide essentiellement constitué

d'hexoses ; l'hémicellulose (20 à 30% poids), qui est un polysaccharide le plus souvent essentiellement constitué de pentoses ; et la lignine (15 à 25% poids), qui est un polymère de structure complexe et de haut poids moléculaire, composé d'alcools aromatiques reliés par des liaisons éther. Ces différentes molécules sont responsables des propriétés intrinsèques de la paroi végétale et s'organisent en un enchevêtrement complexe.

Parmi les trois polymères de base qui intègrent la biomasse lignocellulosique, la cellulose et l'hémicellulose sont ceux qui permettent la production de jus sucrés 2G.

[0007] Le plus souvent, l'hémicellulose est majoritairement décomposée en sucres durant le prétraitement, et la cellulose est convertie en glucose par l'hydrolyse enzymatique. Toutefois, l'accès à la cellulose brute reste difficilement accessible aux enzymes, d'où la nécessité du prétraitement mentionné plus haut. Ce prétraitement permet de modifier les propriétés physico-chimiques de la biomasse lignocellulosique afin d'améliorer l'accessibilité de la cellulose aux enzymes et sa réactivité à l'hydrolyse enzymatique.

[0008] De nombreuses technologies intéressant l'invention pour réaliser ce prétraitement existent, qui seront ci-après regroupées sous le terme générique de « cuisson » : cuissons acides, cuissons alcalines, cuisson par auto-hydrolyse, explosion à la vapeur, procédés dits « organosolv pulping » selon le terme anglais connu (ou traitement avec organo-solvant en français). Ce dernier procédé concerne un prétraitement en présence d'un ou plusieurs solvants organiques et généralement d'eau. Le solvant peut être un alcool (éthanol), un acide type acide acétique, acide formique, ou encore l'acétone.

[0009] Différentes configurations sont reportées par exemple dans le document « Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review », M. Balat, Energy Conversion and Management 52 (2011) 858–875, ou encore dans le document « Bioethanol production from agricultural wastes : an overview », N. Sarkar, S. Kumar Ghosh, S. Bannerjee, K. Aikat, Renewable Energy 37 (2012) 19-27.

[0010] Un des prétraitements le plus efficace est l'explosion à la vapeur, notamment en condition acide, qui permet une hydrolyse presque totale de l'hémicellulose et une amélioration importante de l'accessibilité et de la réactivité de la cellulose aux enzymes. Ce prétraitement peut être précédé d'autre(s) traitement(s).

[0011] Ainsi, le prétraitement peut généralement comporter trois étapes qui sont la préparation de liqueur, l'imprégnation de la biomasse par cette liqueur et le prétraitement de la biomasse imprégnée, par exemple par cuisson éventuellement couplée à une explosion à la vapeur : Le brevet FR 3 075 203 décrit un procédé avec imprégnation de la biomasse avec une liqueur acide, puis cuisson et explosion à la vapeur de la biomasse imprégnée, avec un ajustement de l'acidité de la liqueur acide et un recyclage de celle-ci. Le brevet FR 3 075 201 décrit également un procédé de prétraitement de la biomasse par imprégnation acide puis explosion à la vapeur, avec en outre un lavage

des moyens d'alimentation des réacteurs et recyclage des eaux de lavage dans le procédé.

- [0012] Les jus sucrés ainsi obtenus à partir de biomasse lignocellulosique, notamment après son prétraitement ou après l'hydrolyse enzymatique dans le cas des sucres dits 2G, se présentent sous forme d'un mélange de sucres en phase aqueuse, où l'on trouve des sucres dits C5 (c'est-à-dire à 5 carbones), comme le xylose et l'arabinose, et des sucres dits C6 (c'est-à-dire à 6 carbones), comme le glucose, le mannose et le galactose.
- [0013] Notamment dans le cas de jus sucrés de type 2G issus du prétraitement de la biomasse lignocellulosique, on observe pour la majorité des biomasses lignocellulosiques, dans le jus sucré, une proportion de sucres en C5 nettement supérieure à celle des sucres en C6. Par jus sucré, on entend que des sucres sont libérés par le prétraitement, et qu'ils peuvent être solubilisés en mélangeant la biomasse prétraitée avec de l'eau par exemple. Or il existe des débouchés pour des jus sucrés en C5 spécifiquement (par exemple pour convertir le xylose en xylitol). Dans une moindre mesure, ces jus sucrés peuvent aussi contenir du furfural ou des dérivés de furfural, des produits de dégradation des sucres, des alcools carboxyliques, des composés furaniques, qui sont des inhibiteurs de fermentation, ce qui est préjudiciable quand on veut poursuivre la conversion des jus sucrés en alcools par fermentation à l'aide de micro-organismes du type levures ou bactéries. Par exemple, la publication « Removal of the Fermentation Inhibitor, Furfural, Using Activated Carbon in Cellulosic-Ethanol Production » de Kuang Zhang and al. (Industrial & Engineering Chemistry Research 2011, 50, 14055–14060) démontre le caractère inhibiteur du furfural à une teneur de 4 g/L pour la bactérie *Zymomonas mobilis* A3 lors de fermentations.
- [0014] Il existe donc un besoin pour séparer ou purifier les sucres C5 des autres sucres, notamment les sucres C6, et éventuellement d'autres composés indésirables, afin d'obtenir des jus de sucres C5 purs, ou tout au moins avec une teneur augmentée en sucres C5 par rapport à d'autres sucres dans le jus sucré.
- [0015] Différentes techniques de purification/séparation ont déjà été envisagées.
- Ainsi, la demande de brevet WO 2022/023686 décrit un traitement de biomasse comprenant un prétraitement puis une hydrolyse enzymatique pour obtenir un jus sucré comprenant du glucose, qui est ensuite clarifié puis purifié par filtration sur charbon actif, afin d'éliminer des matières en suspension et de capter certains contaminants solubles. C'est une technique simple, mais qui ne permet pas de séparer les sucres C5 des sucres C6.
- La publication « Removal of furfural and HMF from monosaccharides by nanofiltration and reverse osmosis membranes » de Tielin Wang and al. (Journal of the Energy Institute 91(2018) 473-480) propose de retirer le furfural et son dérivé d'un jus sucré pour augmenter le rendement de la fermentation du jus sucré, par des techniques

de nanofiltration et de membranes osmotiques inversées. C'est une technique complexe et coûteuse, et qui ne permet pas de séparer les sucres C5 à la fois des sucres C6 et des dérivés de furfural, sauf à multiplier les opérations de filtration par membranes.

La demande de brevet US 2013/0149761 propose de provoquer la précipitation des composés qui ne sont pas des sucres à l'aide d'hydroxyde de baryum ou de calcium, afin d'obtenir un jus qui ne contient plus que des sucres du type glucose, xylose et autres sucres. Cette technique ne permet donc pas de séparer sélectivement les sucres, mais simplement de retirer du jus sucré des composés minoritaires qui sont des sous-produits du prétraitement de la biomasse.

[0016] Le brevet EP3990464 décrit la séparation du glucose, à partir d'un mélange de sucres C5 et de sucres C6, par adsorption de glucose sur un adsorbant zéolithique de type FAU. C'est une méthode intéressante, qui ne permet cependant pas une séparation optimale du glucose, qui présente une sélectivité qui peut être améliorée.

Le brevet EP3990668 décrit la séparation du xylose à partir d'un mélange de sucres C5 et de sucres C6, également par adsorption, ici du xylose, sur un adsorbant zéolithique de type FAU, avec la même limite en termes de sélectivité dans la séparation réalisée.

Or, dans un cas (séparation du glucose) comme dans l'autre (séparation du xylose), il peut être nécessaire, selon les applications visées, d'obtenir des sucres séparés extrêmement purs.

[0017] L'invention a donc pour but de remédier aux inconvénients précités. Elle a pour but d'améliorer les techniques de séparation sélective de sucres dans un jus sucré comprenant différents sucres, notamment des sucres C5 et des sucres C6, en visant notamment l'obtention de jus enrichi en sucres C5. Par jus « enrichi », on entend que le jus sucré obtenu par l'invention a un ratio de sucres C5/C6 supérieur au ratio du jus sucré obtenu sans l'invention.

Résumé de l'invention

[0018] L'invention a tout d'abord pour objet un procédé de traitement d'un mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones, et tel qu'on met en contact ledit mélange en phase aqueuse avec un micro-organisme ne consommant, parmi les sucres du mélange, essentiellement que les sucres C6, afin d'obtenir un mélange appauvri en sucres C6.

On comprend dans le présent texte par « essentiellement que des sucres C6 » le fait que le microorganisme ne consomme pas le ou les autres sucres présents dans le mélange, ou alors dans une proportion si faible qu'elle est négligeable/pas mesurable.

[0019] De préférence, le jus sucré initial, est issu en majorité de la dépolymérisation des hé-

micelluloses présents dans la biomasse lignocellulosique. De préférence, le jus sucré contient plus de sucres C5 que de sucres C6 en poids. De préférence, le jus sucré est obtenu sans ajout d'enzymes. Enfin, de préférence, le jus sucré initial est obtenu à l'issue du prétraitement d'une biomasse lignocellulosique.

On comprend ici par « issu en majorité » le fait qu'au moins la moitié du jus sucré initial en question provient de la dépolymérisation en question (notamment la totalité).

[0020] L'invention a ainsi mis au point une nouvelle technique de séparation des sucres C5 et C6 dans un jus sucré, en sélectionnant un micro-organisme qui va sélectivement consommer le sucre, ici le sucre C6, que l'on veut retirer du jus sucré, afin d'obtenir un jus dit purifié en sucres C5, valorisable dans l'industrie chimique notamment. C'est une séparation par voie biochimique, plutôt que par voie physique ou chimique, qui est très intéressante : elle est à la fois plus simple à mettre en œuvre que des techniques connues de filtration, et nettement plus performante et sélective.

[0021] Au sens de l'invention, le micro-organisme peut être un seul type de microorganisme ou une association de différents microorganismes.

Au sens de l'invention, le terme de « mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones » pourra aussi être désigné, par souci de concision, sous le terme de « jus sucré initial »

Au sens de l'invention, le terme « mélange appauvri en sucres C6 » pourra aussi être désigné, par souci de concision, sous le terme de « jus purifié » ou encore de « jus appauvri ».

Au sens de l'invention, on comprend par « sucres » des sucres sous leur forme monomérique (et non sous une forme oligomérique/polymérique).

Au sens de l'invention, « jus » est équivalent à un mélange de composés en phase aqueuse : le jus est aqueux.

[0022] Le microorganisme va consommer le sucre C6 au moins pour sa propre maintenance ou croissance : le sucre C6 disparaît ainsi. Il peut aussi, selon la quantité de sucres C6 présente dans le jus sucré et selon la quantité et le type de microorganisme choisi, convertir le sucre en un autre composé valorisable. (A noter cependant que le microorganisme peut aussi consommer une très faible quantité de sucre en C5 comme le xylose, mais il reste essentiellement consommateur en sucres C6).

[0023] Ainsi, avantageusement, le micro-organisme convertit au moins une partie, notamment la majorité, des sucres C6 en alcool, notamment en éthanol. La conversion en alcool n'est pas complète car le microorganisme peut utiliser un peu de sucres pour des sous-produits non-alcools ou pour son métabolisme. On comprend ici par « la majorité » le fait que le microorganisme peut convertir au moins la moitié des sucres C6 en éthanol (notamment plus que la moitié, par exemple au moins les deux tiers desdits sucres C6, voire quasiment leur totalité).

- [0024] Or l'éthanol est un produit hautement valorisable, que l'on va plus aisément pouvoir séparer du jus sucré. On peut par exemple séparer l'éthanol d'un mélange aqueux par distillation ou par entraînement par strippage. Le micro-organisme peut être séparé par une opération de séparation solide/liquide connue de l'homme du métier comme la centrifugation par exemple.
- [0025] Le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones (le jus sucré initial) peut aussi comprendre du furfural, notamment quand le jus sucré est issu du prétraitement de biomasse lignocellulosique en conditions acides. Dans ce cas, on peut choisir le microorganisme pour qu'il consomme aussi du furfural, notamment par conversion d'au moins une partie du furfural en alcool, notamment en alcool furfurylique. Là encore, cette consommation est très intéressante, dans la mesure où le furfural est connu pour être un inhibiteur vis-à-vis de réactions fermentaires : on améliore ainsi la productivité et les rendements d'éventuelles conversions biochimiques prévues pour le jus purifié.
- [0026] Le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones (le jus sucré initial) peut aussi comprendre du 5-hydroxyméthyl furfural (5-HMF), notamment quand le jus sucré est issu du prétraitement de biomasse lignocellulosique en conditions acides. Dans ce cas, on peut choisir le microorganisme pour qu'il consomme aussi du 5-hydroxyméthyl furfural, notamment par conversion d'au moins une partie du 5-hydroxyméthyl furfural notamment en alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique. Là encore, cette consommation est très intéressante, dans la mesure où le 5-HMF est également connu pour être un inhibiteur vis-à-vis de réactions fermentaires : on améliore ainsi les rendements d'éventuelles conversions biochimiques prévues pour le jus purifié.
- [0027] Le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones (le jus sucré initial) peut aussi comprendre d'autres composés de dégradation des sucres en C5 ou C6, notamment des composés furaniques, des acides organiques, des composés à haut poids moléculaire, notamment quand le jus sucré est issu du prétraitement de biomasse lignocellulosique à haute température ou par solvant.
- Ce qui est avantageux, et surprenant, dans le procédé de traitement de l'invention, c'est que ce traitement reste performant même quand le jus sucré initial contient ce type de composés, alors qu'on aurait pu craindre qu'ils ne jouent potentiellement un rôle d'inhibiteur(s) vis-à-vis de la conversion des sucres C6 selon l'invention.
- [0028] Le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones peut aussi comprendre des sels minéraux.
- [0029] Le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones peut aussi comprendre des sucres sous

forme oligomérique.

- [0030] Le micro-organisme peut avantageusement être choisi parmi les levures, les bactéries, les champignons.
- [0031] Il peut par exemple être choisi parmi les levures dans le genre *Saccharomyces*, notamment l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* ou, parmi bactéries, dans le genre *Corynebacterium*, notamment l'espèce *Corynebacterium*, *Zymomonas mobilis*. Le choix de *Saccharomyces cerevisiae*, notamment, est intéressant, car la souche sauvage consomme naturellement les sucres C6, mais pas les sucres C5, et des travaux ont porté pour le modifier génétiquement afin qu'il soit justement apte à consommer les deux types de sucres : l'invention préconise ainsi de revenir à la version non modifiée génétiquement de cette levure/la version native, justement pour exploiter sa sélectivité vis-à-vis des sucres, jusque-là perçue comme un inconvénient.
- [0032] De préférence, le traitement du mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones avec le micro-organisme est réalisé à une température comprise entre 20 et 60°C, notamment entre 25 et 40°C, notamment entre 30 et 35°C. La température du traitement est à adapter en fonction du microorganisme choisi, chaque microorganisme ayant une plage de température où son activité est maximale.
- [0033] Avantageusement, le traitement du mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones avec le micro-organisme a une durée comprise entre 5 minute et 15 heures, notamment entre 10 minutes et 8 heures.
- [0034] Le traitement peut s'effectuer en batch, en fed-batch de jus sucré, ou en continu.
- [0035] Le microorganisme sélectionné qui va sélectivement consommer le sucre C6 selon l'invention peut être ajouté en une seule fois directement avec le jus sucré, ou avec une alimentation séquentielle, indépendamment ou non de l'alimentation du jus sucré.
- [0036] Là encore, la durée du traitement est à ajuster en fonction du type et de la quantité de microorganisme utilisée, en fonction de la quantité de sucres C6 dans le jus sucré, en fonction de la quantité de sucres C6 qu'on souhaite diminuer dans le jus sucré, en fonction de la quantité de composés dits inhibiteurs du micro-organismes (des composés furaniques comme le furfural ou le 5-hydroxymethyl furfural, des acides carboxyliques comme l'acide acétique ou l'acide formique, ou des composés phénoliques) pour la levure *Saccharomyces Cerevisiae* et en fonction de la teneur finale en sucres C6 acceptable dans le jus purifié.
- [0037] De préférence, le traitement du mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones avec le micro-organisme est opéré à un pH compris entre 2 et 10, notamment entre 4 et 6, notamment entre 4,5 et 5,5.

- [0038] Le traitement du mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones avec le micro-organisme peut être opéré en condition aérobie ou anaérobie, selon le microorganisme choisi et le produit désiré de la consommation des sucres.
- [0039] Avantageusement, la concentration en micro-organismes dans le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones est comprise entre 1 et 200 g/kg de sucres C6, notamment entre 10 et 30 g/kg de sucres C6.
- [0040] Le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones est de préférence issu de traitement de biomasse, notamment lignocellulosique, provenant notamment de résidus forestiers et/ou agricoles et/ou papetiers, et/ou de plantes saccharifères et/ou de plantes amylacées et/ou de Fractions Fermentescibles d'Ordures Ménagères (FFOM).
- [0041] Le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones peut être issu d'une opération de lavage de la biomasse, ou d'une hydrolyse ou prétraitement de la biomasse comprenant notamment une imprégnation de la biomasse par une liqueur acide ou basique ou oxydante suivie d'une cuisson de la biomasse imprégnée, notamment une cuisson avec explosion à la vapeur.
- [0042] Le mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones peut être issu d'une étape de séparation solide/liquide mettant en œuvre une biomasse prétraitée par explosion à la vapeur repulpée avec un solvant (de l'eau par exemple).
- [0043] L'invention a également pour objet le jus purifié obtenu selon le traitement de l'invention : elle a ainsi aussi pour objet un mélange de composés en solution aqueuse, qui comprend des sucres en C5 et des produits de conversion des sucres en C6 et éventuellement des autres composés minoritaires présents dans le jus à purifier.
- [0044] Par exemple ces produits de conversion des sucres en C6 et autres composés minoritaires sont des alcools tels que de l'éthanol, de l'alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique et de l'alcool furfurylique, notamment dans les concentrations suivantes ;
- sucres C5 : entre 10 et 100 g/kg de solution, notamment entre 20 et 60 g/kg de solution
 - éthanol : entre 1 et 12 g/kg de solution, notamment entre 2 et 7 g/kg de solution
 - alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique : entre 0,1 et 9 g/kg de solution, notamment entre 0,2 et 4 g/kg de solution
 - alcool furfurylique : entre 0,05 et 9 g/kg de solution, notamment entre 0,1 et 3,8 g/kg, notamment entre 0,1 et 1,8 g/kg de solution
- [0045] Le jus purifié selon l'invention peut ainsi contenir des alcools, notamment un alcool

qui est issu de la conversion des sucres C6 sous l'action du microorganisme, par exemple l'éthanol, le butanol ou l'isopropanol, et des alcools issus notamment de la conversion des deux inhibiteurs (furfural et 5-HMF), également sous l'action du microorganisme.

[0046] Les produits de conversion des sucres C6 peuvent être également des micro-organismes eux-mêmes, notamment des levures, dans le cas où le traitement selon l'invention est réalisé en conditions aérobies. Les sucres C6 sont consommés par le microorganisme pour sa propre croissance ou maintenance

[0047] Avantageusement, le jus purifié selon l'invention contient moins de 0,5 g/kg de solution de sucres C6, et de préférence aucun sucre C6, moins de 0,1 g/kg de solution de furfural, notamment aucun furfural, et moins de 0,1 g/kg de solution de 5-hydroxyméthyl furfural, notamment aucun 5-hydroxyméthyl furfural.

Avec l'invention, on peut donc aller jusqu'à supprimer complètement (par consommation ou conversion) tout le sucre C6 du jus sucré initial, et il en est de même pour les deux dérivés furaniques : selon les contraintes de degré de pureté du jus purifié en sucres C5, on peut donc éliminer le sucre C6, ou tout au moins le maintenir à une teneur très faible, au niveau d'une teneur acceptable en impuretés par exemple.

[0048] Avantageusement, le jus purifié contient les composés suivants :

- glucose : entre 0 et 0,3 g/kg de solution
- xylose : entre 9 et 91 g/kg de solution
- arabinose : entre 1 et 9 g/kg de solution
- galactose : entre 0 et 0,1 g/kg de solution
- mannose : entre 0 et 0,1 g/kg de solution
- alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique : entre 0,1 et 9 g/kg de solution
- alcool furfurylique : entre 0,05 et 3,8 g/kg de solution

[0049] Ce jus purifié est de préférence obtenu à partir d'un mélange en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 avec 5 carbones et des sucres C6 avec 6 carbones selon le procédé de l'invention.

[0050] Le jus purifié selon l'invention peut aussi contenir des alcools carboxyliques, comme de l'acide acétique, de l'acide formique ou de l'acide lévulinique, Avantageusement le jus purifié selon l'invention contient moins de 8 g/kg d'acide acétique, de préférence moins de 5 g/kg d'acide acétique. Le jus purifié selon l'invention peut aussi contenir des sucres sous forme oligomérique, par exemple des composés de type arabinoxylanes, des oligomères de pentoses et d'hexose. Avantageusement le jus purifié selon l'invention contient entre 0% et 100% de sucres oligomères par rapport aux sucres monomères, de préférence entre 0,1% et 50%, notamment entre 0,1% et 20% de sucres oligomères par rapport aux sucres monomères.

[0051] L'invention a également pour objet l'utilisation du mélange traité selon

l'invention/décrit plus haut (jus purifié), qui est donc un jus sucré à très haute teneur en sucres C5 (par rapport à des sucres C6), pour convertir les sucres C5 par voie chimique, notamment pour convertir le xylose en xylitol, ou par voie biochimique, notamment pour servir de substrat carboné pour la propagation de levures ou pour l'induction de champignons pour la production d'enzymes.

Le xylose est considéré comme une molécule plateforme, et de nombreuses voies de valorisation sont possibles (xylitol, monoéthylène glycol, propanol, butanol, acide lactique, acide succinique ...).

[0052] L'invention sera décrite ci-après de façon plus détaillée, à l'aide d'exemples non limitatifs et des figures suivantes :

[0053] **Liste des figures**

[Fig.1]

La [Fig.1] est une représentation très schématique d'un réacteur mettant en œuvre le traitement selon l'invention, et représentant les composés d'intérêt entrant et sortant du réacteur.

[Fig.2]

La [Fig.2] est un graphe représentant en abscisse la durée du traitement selon l'invention (en heures) et en ordonnée l'évolution des concentrations en composés d'un mélange de sucres traité selon l'invention, en g/kg de milieu réactionnel.

Les abréviations dans la [Fig.2] signifient :

glu : glucose

xyl : xylose

ara : arabinose

gal : galactose

man : mannose

[Fig.3]

La [Fig.3] est une représentation très schématique d'un réacteur mettant en œuvre le traitement selon l'invention, et représentant les composés d'intérêt entrant et sortant du réacteur en conditions aérobies, pour propager les microorganismes (levures).

[0054] **Description des modes de réalisation**

L'invention cherche donc, en partant d'un jus sucré contenant des sucres en C5 et des sucres en C6 (et de préférence que ces deux types de sucres), à obtenir un jus dit purifié où la teneur en sucres C6 a été diminuée, voire supprimée, par un traitement biochimique.

[0055] Le traitement biochimique est une mise en contact du jus sucré en sucres C5 et C6, jus obtenu par traitement de matière à base de biomasse lignocellulosique et comprenant majoritairement du sucre en C5, avec un microorganisme qui consomme sélectivement les sucres en C6 : les sucres en C5 ne sont pas modifiés, restent quasi-

intacts dans le jus, alors que les sucres en C6 vont progressivement être consommés par le microorganisme pour sa propre croissance et/ou pour être convertis en un autre composé, sous forme d'alcool dans le cas où la réaction biochimique est une fermentation. Les conditions opératoires du traitement sont adaptées en fonction de la teneur initiale en sucres C6 et de la teneur finale en sucres C6 qui est acceptable (plus de sucres C6 du tout, ou une teneur inférieure à une valeur donnée) : température, pH, durée, aération, choix et concentration du microorganisme.

Exemples

[0056] Exemple 1 (comparatif)

On part d'un jus sucré initial J0 issu de biomasse prétraitée par imprégnation acide de la biomasse puis explosion à la vapeur, conformément à l'enseignement du brevet FR 3 083 126 précité, auquel on se rapportera pour plus de détails.

Succinctement, ce prétraitement est une opération d'imprégnation de biomasse lignocellulosique par une liqueur acide, suivie par une opération d'explosion vapeur de la biomasse imprégnée. Au moins une partie de la biomasse prétraitée subit une opération de séparation liquide/solide à l'issue de l'étape de prétraitement, cette étape de séparation liquide/solide comprenant une étape de contactage entre la biomasse lignocellulosique prétraitée et de l'eau, et une étape de filtration et optionnellement de lavage. Pour obtenir le jus J0, 550 kg de biomasse prétraitée sont mélangés avec 1010 kg d'eau, puis filtrés puis pressés. Après filtration et pressage, 885 kg d'un jus J0, appelé aussi hydrolysât C5, est obtenu. Le prétraitement se déroulant dans des conditions acides, ce jus a un pH de 2.

[0057] La concentration en composés d'intérêt de ce jus J0 est donnée dans le tableau 1 ci-dessous, avec des concentrations exprimées en g par kg de jus. . A noter qu'il est possible que la composition contienne des impuretés autres, qu'on n'a pas cherché à analyser, par exemple du type sel (minéral) ou acide, dans de très faibles teneurs.

[Tableaux1]

	Concentration	Jus J0	Type de sucre/composé
Xylose	g/kg	34,4	Sucre C5
Arabinose	g/kg	3,5	Sucre C5
Glucose	g/kg	6,9	Sucre C6
Galactose	g/kg	1,1	Sucre C6
Mannose	g/kg	0,4	Sucre C6
5- HMF	g/kg	0,4	Inhibiteur potentiel de fermentation selon la concentration
Furfural	g/kg	0,2	Inhibiteur potentiel de fermentation selon la concentration

[0058] On voit que 82% des sucres du jus J0 sont des sucres C5, que 18% des sucres sont des sucres C6, et que sont également présents, en des teneurs bien inférieures aux sucres, du 5-HMF et du furfural, connus pour inhiber des réactions biochimiques qu'on peut envisager d'opérer sur les sucres par la suite (par exemple pour des fermentations éthanoliques à partir de levures).

Les jus sucrés issus de biomasse prétraitée comprennent généralement une quantité bien supérieure de sucres C5 à celle des sucres C6, et il y a un besoin, pour les valoriser, de séparer les sucres C5 des sucres C6. Or les techniques actuellement disponibles sont peu satisfaisantes (filtrations par membrane notamment), car elles sont complexes à mettre en œuvre et ne permettent généralement pas d'atteindre dans le jus séparé de sucres C5 le niveau de pureté en sucres C5 recherché.

[0059] Par exemple, la publication « *Removal of furfural and HMF from monosaccharides by nanofiltration and reverse osmosis membranes* » de Tielin Wang and al. (Journal of the Energy Institute 91(2018) 473-480) conclut que les membranes les plus performantes pour séparer le 5-HMF et le furfural d'un jus sucré sont les membranes Desal-5 DK et Alfa Laval-NF (moins de 2% de rétention pour le 5-HMF et le furfural) mais qu'elles conduisent à une perte de sucres trop importante (de 2 à 8% pour le glucose et de 10 à 20% pour le xylose).

[0060] La publication « *Removal of the Fermentation Inhibitor, Furfural, Using Activated Carbon in Cellulosic-Ethanol Production* » de Kuang Zhang and al. (Industrial & Engineering Chemistry Research 2011, 50, 14055–14060) conclut quant à elle que le charbon actif commercial Norit_1240 de Norit Company peut réduire sélectivement la concentration en furfural d'une solution modèle de jus sucré de 4 g/L à 0 g/L, mais les sucres C6 (ici le glucose) ne sont pas sélectivement séparés des sucres C5 (ici le

xylose).

[0061] **Exemple 2 (selon l'invention)**

On part du jus sucré J0 défini à l'exemple 1. On conduit une fermentation du jus J0 avec un microorganisme, la levure *Saccharomyces cerevisiae*, dans une version native, non modifiée génétiquement, et qui présente la particularité de consommer sélectivement les sucres C6, et pas les sucres C5.

[0062] La levure estensemencée à 0,5 g de levures par kg de solution, soit 60 g levures par kg de sucres C6. L'expérimentation a été menée dans un bioréacteur pendant 6 heures, à 33°C et pH 5,3. Le traitement a été réalisé en conditions anaérobies pour maximiser la production d'éthanol à partir des sucres C6 par fermentation, et non la production de biomasse. Cette réaction peut s'effectuer en batch, en fed-batch ou en continu. On peut ensuite les séparer pour les traiter/valoriser séparément.

[0063] Les réactions qui résultent de l'action de la levure sont schématisées dans la [Fig.1], qui représente le bioréacteur 1, avec les intrants suivants :

2 : la levure

3 : une base (pour réguler le pH et maintenir le milieu réactionnel dans les conditions nécessaires à l'activité de la levure choisie), de type NH_4OH , KOH ou NaOH par exemple

4 : des nutriments pour la levure

5 : le jus J0, qui contient en phase aqueuse des sucres C5 51, des sucres C6 52, du 5-HMF 53 et du furfural 54,

et avec les produits sortants :

6 : émission de CO_2 en phase gazeuse, évacué en partie haute du bioréacteur, témoin de l'activité de la levure,

5' : soutirage d'un jus J1, issu du jus J0 après action de la levure sur le jus J0, et qui contient la levure 2, des sucres C5 51, de l'alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique 55, de l'alcool furfurylique 56, de l'éthanol 57 et des levures 2.

[0064] Les quantités d'intrants (outre les concentrations indiquées plus haut) sont précisées ci-dessous : Dans une cuve agitée, 985 kg de jus J0 sont mélangés avec :

- 0,4 kg d'urée (pour les besoins en azote)
- 0,5 kg de levures sèches *S. Cerevisae*
- 5 kg d'extrait de levures (nutriments)
- 9,1 kg d'une solution de KOH à 50%pds pour ajuster le pH à 5,3

[0065] La concentration en composés d'intérêt du mélange à l'état initial est donnée dans le tableau 2 ci-dessous, avec des concentrations exprimées en g par kg de jus. A noter qu'il est possible que la composition contienne des impuretés autres, qu'on n'a pas cherché à analyser, du type sel ou acide, dans de très faibles teneurs.

[Tableaux2]

	Concentration	Mélange	Type de sucre/composé
Xylose	g/kg	33,9	Sucre C5
Arabinose	g/kg	3,4	Sucre C5
Glucose	g/kg	6,8	Sucre C6
Galactose	g/kg	1,1	Sucre C6
Mannose	g/kg	0,4	Sucre C6
5- HMF	g/kg	0,4	Inhibiteur potentiel de fermentation selon la concentration
Furfural	g/kg	0,2	Inhibiteur potentiel de fermentation selon la concentration
Acide acétique	g/kg	1,2	Inhibiteur potentiel de fermentation selon la concentration

[0066] En début de réaction, le milieu réactionnel contient :

- 8,3 kg de sucres C6 (glucose + galactose + mannose)
- 37,3 kg de sucres C5 (xylose + arabinose)
- 0,4 kg de 5-HMF
- 0,2 kg de furfural

[0067] La conduite de la fermentation est détaillée ci-après :

La fermentation a duré 6 heures et montre que le glucose, le galactose et le mannose (sucres C6, en traits pointillés) sont totalement consommés. L'arabinose et le xylose (sucres C5) ne sont pas consommés. Le furfural et le 5-HMF ont été consommés par la levure qui détoxifie son milieu, pour produire de l'alcool furfurylique et de l'alcool 5-hydroxyméthyl furfurylique (aussi appelé 2,5-Bis(hydroxy méthyl)furane) qui n'inhibent pas la levure.

[0068] On a donc constaté que le jus initial J0, composé de 45,6 kg de sucres monomères (18% sucres C6/82% sucres C5) est purifié en quelques heures en un jus J1 composé de 37,3 kg de sucres monomères (0% sucres C6 et 100% de sucres C5).

[0069] En conditions anaérobies, à 33°C et à pH 5,3, les levures consomment les sucres C6 (majoritairement pour produire de l'éthanol) et les inhibiteurs (5-HMF et furfural) en six heures.

[0070] En fin de réaction, le milieu contient un jus J1 dont la composition est donnée dans le tableau 2 ci-dessous, avec des concentrations exprimées en g par kg de milieu :

[Tableaux3]

	Concentration	Jus J1	Type de sucre/composé
Xylose	g/kg	33,9	Sucre C5
Arabinose	g/kg	3,4	Sucre C5
Glucose	g/kg	0	Sucre C6
Galactose	g/kg	0	Sucre C6
Mannose	g/kg	0	Sucre C6
5 HMF	g/kg	0	Inhibiteur potentiel de fermentation selon la concentration
Furfural	g/kg	0	Inhibiteur potentiel de fermentation selon la concentration
Acide acétique	g/kg	1,2	Inhibiteur potentiel de fermentation selon la concentration
Alcool 5-Hydroxymethyl furfurylique	g/kg	0,4	Produit de la consommation du 5-HMF
Alcool furfurylique	g/kg	0,2	Produit de la consommation du furfural
Ethanol	g/kg	2,9	Produit de la consommation des sucres C6

[0071] On a donc au bout de 6 heures de réaction :

- 0 kg de sucres C6 (glucose + galactose + mannose), soit une consommation de 100% des sucres C6
- 37,3 kg de sucres C5 (xylose + arabinose), soit une consommation de seulement 1.6% des sucres C5
- 0 kg de 5-HMF, soit une consommation de 100% du 5-HMF
- 0 kg de furfural, soit une consommation de 100% du furfural
- 0,4 kg d'alcool 5-hydroxymethylfurfurylique
- 0,2 kg d'alcool furfurylique

- 2,9 kg d'éthanol, soit un rendement éthanol/sucres C6 de $0.35 \text{ kg}_{\text{éthanol}}/\text{kg}_{\text{sucres C6}}$

[0072] La [Fig.2] représente l'évolution des teneurs des composés du jus J0 pendant toute la durée de la fermentation, par prélèvements et analyses.

[0073] Les données du tableau 2 et du graphe de la [Fig.2] confirment que la levure n'a aucune action sur les sucres C5, dont la teneur reste constante. En revanche, la levure a consommé entièrement à la fois tous les sucres C6 et les deux inhibiteurs, pour les convertir au moins en partie en alcools (une autre partie pouvant être consommée par la levure pour sa propre croissance). Le traitement par la levure donne donc des résultats spectaculaires, avec un jus purifié en sucres C5 qui ne contient plus du tout de sucres C6 et dont les inhibiteurs ont été, simultanément, totalement éliminés également.

Le fait qu'une partie au moins des sucres C6 ait été transformée en éthanol est également très avantageux, car l'éthanol est un produit hautement valorisable et pouvant être produit dans les procédés traitant de biomasse lignocellulosique.

[0074] On observe aussi des données du graphe de la [Fig.2] que la durée de la fermentation pour que les sucres C6 soient entièrement consommés est de 6 heures, ce qui est une durée raisonnable, qui peut encore être abaissée en jouant, notamment, sur la quantité de levure ajoutée, ou si des teneurs abaissées mais non nulles en sucres C6 sont acceptables. Des expériences ont été ainsi réalisées avec succès avec des durées de fermentation bien moindres, notamment de 30 minutes à 2 heures, par exemple une durée d'environ 1 heure.

[0075] En conclusion, l'invention parvient à purifier des mélanges de sucres pour obtenir des jus contenant le type de sucres que l'on veut conserver, en choisissant un micro-organisme sélectif, qui peut en outre, optionnellement, consommer/éliminer également dans les mélanges de sucres des composés indésirables/des impuretés, et notamment des inhibiteurs de réactions biochimiques comme des dérivés furaniques. Sa mise en œuvre est simple, en une étape de fermentation, et son efficacité redoutable, avec des éliminations éventuellement complètes des composés qu'on veut retirer des jus sucrés.

Exemple 3 (selon l'invention)

On part du jus sucré J0 défini à l'exemple 1. On conduit une fermentation aérobie du jus J0 avec un microorganisme, la levure *Saccharomyces cerevisiae*, dans une version native, non modifiée génétiquement, et qui présente la particularité de consommer sélectivement les sucres C6, et pas les sucres C5.

[0076] L'expérimentation a été menée dans un bioréacteur pendant 30 heures, à 30°C et pH 5. Le traitement a été réalisé en conditions aérobies aérobies (à 0,1 vvm, volume d'air par volume de milieu par minute) pour maximiser la production de biomasse et non la production d'éthanol à partir des sucres C6. Cette réaction peut s'effectuer en batch, en fed-batch ou en continu. Dans cet exemple, la réaction s'effectue en fed-

batch de jus sucré durant 24h puis d'une durée de mélange supplémentaire de 6h sans fed-batch.

[0077] Les réactions qui résultent de l'action de la levure sont schématisées dans la [Fig.3], qui représente le bioréacteur 1, avec les intrants suivants :

2 : la levure

3 : une base (pour réguler le pH et maintenir le milieu réactionnel dans les conditions nécessaires à l'activité de la levure choisie), de type NH_4OH , KOH ou NaOH par exemple

4 : des nutriments pour la levure

5 : le jus J0, qui contient en phase aqueuse des sucres C5 51, des sucres C6 52, du 5-HMF 53, du furfural 54, et de l'acide acétique 60

et avec les produits sortants :

6 : émission de CO_2 en phase gazeuse, évacué en partie haute du bioréacteur, témoin de l'activité de la levure,

5' : soutirage d'un jus J1, issu du jus J0 après action de la levure sur le jus J0, et qui contient la levure 2 propagée, des sucres C5 51, de l'alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique 55 et de l'alcool furfurylique 56.

[0078] 7 : une alimentation en air pour être en condition aérobie

[0079] Les quantités d'intrants (outre les concentrations indiquées plus haut) sont précisées ci-dessous : Dans une cuve agitée, 505,4 kg d'eau sont mélangés avec :

- 12,1 kg d'urée (pour les besoins en azote)
- 2 kg d'alcali à 23,5%pds (nutriment pour la levure)
- 0,5 kg d'acide phosphorique (nutriment pour la levure)
- 4,5 kg d'un cocktail de minéraux (nutriments pour la levure)
- 1,8 kg d'acide sulfurique à 37%pds pour diminuer le pH à 5,0
- 1,8 kg de levures sèches *S. Cerevisae*

[0080] Le jus sucré est ensuite ajouté durant 24 heures à un débit linéaire de 19,54 kg/h. Au total, 469 kg de jus sucré sont ajoutés en fed-batch. 2,8 kg d'alcali à 23,5%pds sont également ajoutés pour réguler le pH à 5,0.

[0081] Le fed-batch de 469 kg de jus sucré a ajouté au milieu :

- 3,9 kg de sucres C6 (glucose + galactose + mannose)
- 17,5 kg de sucres C5 (xylose + arabinose)
- 0,2 kg de 5-HMF
- 0,1 kg de furfural
- 0,6 kg d'acide acétique
- 1,8 kg de levures

[0082] La conduite de la fermentation est détaillée ci-après :

La fermentation aérobie a duré 30 heures (24 heures de fed-batch de jus sucré et 6

heures de mélange) et montre que le glucose, le galactose et le mannose sont consommés à 91%. L'arabinose et le xylose (sucres C5) ne sont pas consommés. Le furfural et le 5-HMF ont été consommés à 100% par la levure qui détoxifie son milieu, pour produire de l'alcool furfurylique et de l'alcool 5-hydroxyméthyl furfurylique (aussi appelé 2,5-Bis(hydroxy méthyl)furane) qui n'inhibent pas la levure. L'acide acétique a également été consommé à 100%.

[0083] On a donc constaté que le jus initial J0, composé de 21,4 kg de sucres monomères (18% sucres C6/82% sucres C5) est purifié en 30 heures en un jus J1 composé de 17,3 kg de sucres monomères (2% sucres C6 et 98% de sucres C5) tout en multipliant les levures d'un facteur de multiplication de 2,1.

[0084] On a donc au bout de 30 heures :

- 0,3 kg de sucres C6 (glucose + galactose + mannose), soit une consommation de 91% des sucres C6
- 17 kg de sucres C5 (xylose + arabinose), soit une consommation de seulement 2,6% des sucres C5
- 0 kg de 5-HMF, soit une consommation de 100% du 5-HMF
- 0 kg de furfural, soit une consommation de 100% du furfural
- 0,2 kg d'alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique
- 0,1 kg d'alcool furfurylique
- 0 kg d'acide acétique, soit une consommation de 100% de l'acide acétique
- 3,8 kg de levures, soit un facteur de multiplication de 2,1.

[0085] La levure n'a donc aucune action sur les sucres C5, dont la teneur reste constante. En revanche, la levure a consommé entièrement à la fois tous les sucres C6 et les deux inhibiteurs (5-HMF et furfural) ainsi que l'acide acétique, pour les convertir au moins en partie en alcools (une autre partie pouvant être consommée par la levure pour sa propre croissance). Le traitement par la levure donne donc des résultats spectaculaires, avec un jus purifié en sucres C5 qui ne contient plus du tout de sucres C6, dont les inhibiteurs ont été, simultanément, totalement éliminés également tout en multipliant la levure.

[0086] En conclusion, l'invention parvient à purifier des mélanges de sucres pour obtenir des jus contenant le type de sucres que l'on veut conserver, en choisissant un micro-organisme sélectif, qui peut en outre, optionnellement, consommer/éliminer également dans les mélanges de sucres des composés indésirables/des impuretés, et notamment des inhibiteurs de réactions biochimiques comme des dérivés furaniques. Sa mise en œuvre est simple, en une étape de fermentation aérobie, et son efficacité redoutable, avec des éliminations éventuellement complètes des composés qu'on veut retirer des jus sucrés.

[0087] Elle permet l'obtention de jus de sucres C5 très purs, avec pas ou une très faible

teneur en sucres C6, avec une pureté qui n'avait jusque là pas pu être atteinte par des méthodes de séparation, du type adsorption sélective sur des zéolithes, comme décrit dans les brevets cités au préambule de la présente demande.

[0088] Elle est en outre très intéressante, en ce qu'elle conduit non pas vraiment à opérer une séparation entre deux types de sucres, mais à obtenir un type de sucre très pur, et à convertir l'autre sucre (sucre C6) en un produit valorisable comme de l'éthanol. Avec l'association des sucres C5 et de l'éthanol issu de la conversion des sucres C6 obtenue avec le procédé selon l'invention, plusieurs possibilités s'offrent, notamment selon les voies de valorisation envisagées et la proportion entre les deux types de sucres dans le jus sucré initial. Ainsi, on peut ensuite séparer les sucres C5 de l'éthanol, et obtenir d'une part des sucres C5 très purs et d'autre part de l'éthanol, valorisables séparément. On peut aussi les garder ensemble pour une valorisation commune. On peut encore regarder une faible teneur en éthanol avec les sucres C5, pour bénéficier de l'effet conservateur de l'alcool sur les sucres

Revendications

- [Revendication 1] Procédé de traitement d'un mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 (51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones et dont la teneur en poids de sucres C5 est supérieure à la teneur en poids de sucres C6, caractérisé en ce qu'on met en contact ledit mélange en phase aqueuse avec un micro-organisme (2) ne consommant, parmi les sucres du mélange, essentiellement que les sucres C6 (52), afin d'obtenir un mélange appauvri en sucres C6.
- [Revendication 2] Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce que le micro-organisme (2) convertit au moins une partie, notamment la majorité, des sucres C6 (52) en alcool (57), notamment en éthanol.
- [Revendication 3] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le mélange (J0) comprend aussi du furfural (54), et en ce que le micro-organisme consomme aussi du furfural, notamment par conversion du furfural en alcool, notamment en alcool furfurylique (56).
- [Revendication 4] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le mélange (J0) comprend aussi du 5-hydroxyméthyl furfural 5-HMF (54), et en ce que le micro-organisme consomme aussi du 5-hydroxyméthyl furfural, notamment par conversion du 5-hydroxyméthyl furfural en alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique (55).
- [Revendication 5] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le micro-organisme (2) est choisi parmi les levures, les bactéries, les champignons.
- [Revendication 6] Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce que le micro-organisme (2) est choisi parmi les levures dans le genre *Saccharomyces*, notamment l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* ou, parmi les bactéries, dans le genre *Corynebacterium*.
- [Revendication 7] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le traitement du mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 (51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones avec le micro-organisme (2) est réalisé à une température comprise entre 20 et 60°C, notamment entre 25 et 40°C.
- [Revendication 8] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le traitement du mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 (51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones avec le micro-organisme (2) a une durée comprise entre 5 minutes et 15 heures, notamment entre 10 minutes et 8 heures.

- [Revendication 9] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le traitement du mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 (51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones avec le micro-organisme (2) est opéré en condition aérobie ou anaérobie.
- [Revendication 10] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le traitement du mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 (51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones avec le micro-organisme (2) est opéré à un pH compris entre 2 et 10, notamment entre 4 et 6, notamment entre 4,5 et 5,5.
- [Revendication 11] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la concentration en micro-organismes (2) dans le mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 (51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones est comprise entre 1 et 200 g/kg de sucres C6, notamment entre 10 et 30 g/kg de sucres C6.
- [Revendication 12] Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5(51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones est issu de traitement de biomasse, notamment lignocellulosique, provenant notamment de résidus forestiers et/ou agricoles et/ou papetiers, et/ou de plantes saccharifères et/ou de plantes amylacées et/ou de Fractions Fermentescibles d'Ordures Ménagères (FFOM).
- [Revendication 13] Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que le mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5 (51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones est issu d'une opération de lavage de la biomasse, ou d'une hydrolyse ou prétraitement de la biomasse comprenant notamment une imprégnation de la biomasse par une liqueur acide ou basique ou oxydante suivie d'une cuisson de la biomasse imprégnée, notamment une cuisson avec explosion à la vapeur.
- [Revendication 14] Mélange (J1) de composés en solution aqueuse, caractérisé en ce qu'il est obtenu à partir d'un mélange (J0) en phase aqueuse de composés comprenant des sucres C5(51) avec 5 carbones et des sucres C6 (52) avec 6 carbones selon le procédé conforme à l'une des revendications précédentes.
- [Revendication 15] Mélange (J1) de composés en solution aqueuse selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'il comprend des sucres en C5 (51), de l'éthanol (57), de l'alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique (55) et de

l'alcool furfurylique (56), notamment dans les concentrations suivantes ;

- sucres C5 : entre 10 et 100 g/kg de solution
- éthanol : entre 1 et 12 g/kg de solution
- alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique : entre 0,1 et 8,6 g/kg de solution
- alcool furfurylique : entre 0,05 et 3,6 g/kg de solution

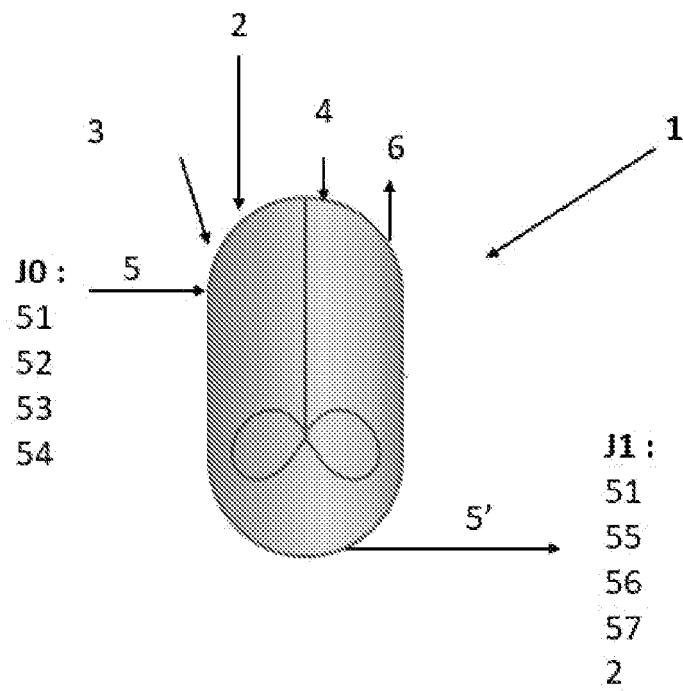
[Revendication 16] Mélange (J1) selon la revendication 14 ou 15, caractérisé en ce qu'il contient moins de 0,3 g/kg de solution de sucres C6 (52), et de préférence aucun sucre C6, moins de 0,1 g/kg de solution de furfural (54), notamment aucun furfural, et moins de 0,1 g/kg de solution de 5-hydroxyméthyl furfural (53), notamment aucun 5-hydroxyméthyl furfural.

[Revendication 17] Mélange (J1) selon l'une des revendications 14 à 16, caractérisé en ce qu'il comprend :

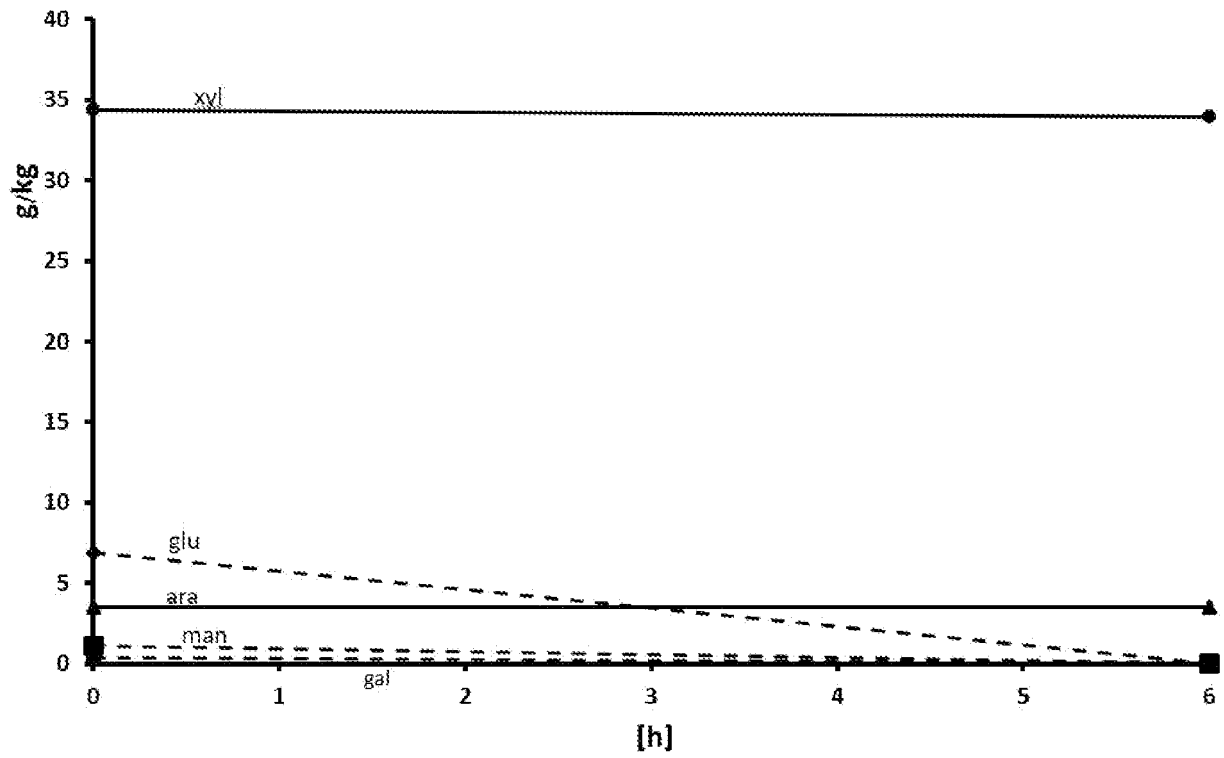
- glucose : entre 0 et 0,3 g/kg de solution
- xylose : entre 9 et 91 g/kg de solution
- arabinose : entre 1 et 9 g/kg de solution
- galactose : entre 0 et 0,1 g/kg de solution
- mannose : entre 0 et 0,1 g/kg de solution
- alcool 5-hydroxyméthylfurfurylique : entre 0,1 et 9 g/kg de solution
- alcool furfurylique : entre 0,05 et 3,8 g/kg de solution

[Revendication 18] Utilisation du mélange (J1) selon l'une des revendications 14 à 17 pour convertir les sucres C5 (51) par voie chimique, notamment pour convertir le xylose en xylitol , ou par voie biochimique, notamment pour servir de substrat carboné pour la propagation de levures ou pour l'induction de champignons pour la production d'enzymes.

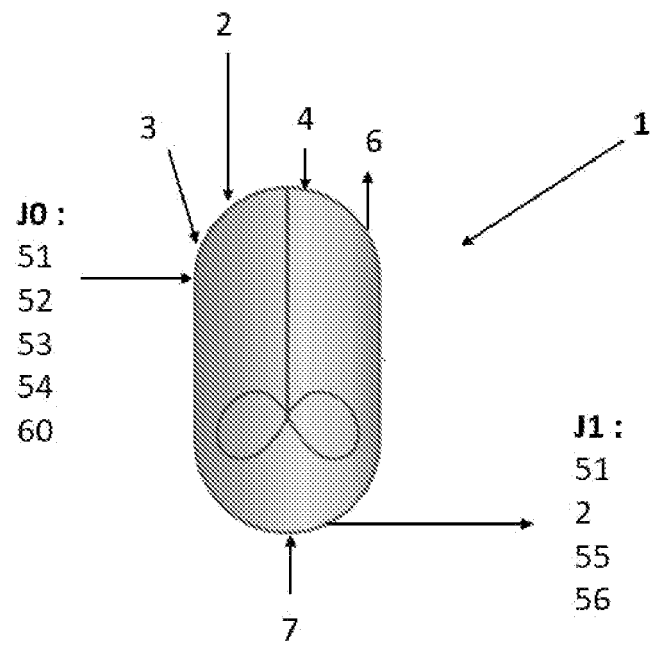
[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 914148

FR 2212406

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	US 2012/231514 A1 (GEERTMAN JAN-MAARTEN A [NL] ET AL) 13 septembre 2012 (2012-09-13) * abrégé; revendications; figure 3 * * alinéas [0079], [0087], [0094], [0095], [0098] * -----	1, 3-13	C12P7/00 C12P7/10 C12P7/22 C12P19/02 C07H1/08
X	ZHOU XIN ET AL: "A two-step bioprocessing strategy in pentonic acids production from lignocellulosic pre-hydrolysate", BIOPROCESS AND BIOSYSTEMS ENGINEERING, SPRINGER, DE, vol. 40, no. 11, 18 juillet 2017 (2017-07-18), pages 1581-1587, XP036324195, ISSN: 1615-7591, DOI: 10.1007/S00449-017-1814-Y [extrait le 2017-07-18] * abrégé; figures 2, 5, 6; tableau 1 * * page 1585, colonne de droite, alinéa 2 - page 1586, colonne de gauche, alinéa 2 * -----	1, 2, 5-13	
X	CHENG HAIRONG ET AL: "Xylitol production from xylose mother liquor: a novel strategy that combines the use of recombinant Bacillus subtilis and Candida maltosa", MICROBIAL CELL FACTORIES, SPRINGER, vol. 1, 10, no. 1, 7 février 2011 (2011-02-07), page 5, XP021088156, ISSN: 1475-2859, DOI: 10.1186/1475-2859-10-5 * abrégé * * pages 4, 7-10; figures 3, 4 * ----- -/--	1-13	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) C12P C12R C12N C13K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
14 juin 2023		Schröder, Gunnar	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 914148

FR 2212406

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	MEKONNEN M DEMEKE ET AL: "Development of a D-xylose fermenting and inhibitor tolerant industrial <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain with high performance in lignocellulose hydrolysates using metabolic and evolutionary engineering", BIOTECHNOLOGY FOR BIOFUELS , , vol. 6, no. 1, 21 juin 2013 (2013-06-21), page 89, XP021155819, ISSN: 1754-6834, DOI: 10.1186/1754-6834-6-89 * figure 5c * * page 3, colonne de droite * * tableau 4 *	1,2,5-11	
A	----- STOKLOSA RYAN J. ET AL: "Xylose-Enriched Ethanol Fermentation Stillage from Sweet Sorghum for Xylitol and Astaxanthin Production", FERMENTATION , vol. 5, no. 4, 1 décembre 2019 (2019-12-01), page 84, XP093054114, DOI: 10.3390/fermentation5040084 * abrégé; figure 1 * * alinéas [2.4.], [2.5.], [3.1.] * ----- -/--	1-13	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
14 juin 2023		Schröder, Gunnar	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 914148

FR 2212406

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	HOR SREYDEN ET AL: "Sugarcane Bagasse-Based Ethanol Production and Utilization of Its Vinasse for Xylitol Production as an Approach in Integrated Biorefinery", FERMENTATION, vol. 8, no. 7, 1 juillet 2022 (2022-07-01) , page 340, XP093054121, DOI: 10.3390/fermentation8070340 * abrégé * * alinéas [2.2.], [2.3.], [3.1.]; figure 1 *	1-13	
A	MX 2007 014 257 A (CT DE INVESTIGACION Y ASISTENC [MX]) 14 mai 2009 (2009-05-14) * abrégé; revendications *	1-13	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
14 juin 2023		Schröder, Gunnar	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B

Numéro de la demande

FA 914148

FR 2212406

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

1. revendications: 1-13

**Procédé de traitement d'un mélange comprenant des sucres C5
et C6 avec un microorganisme**

2. revendications: 14-18

**Mélange de composés obtenu par le procédé et utilisation de
ce mélange pour convertir les sucres C5**

La première invention a été recherchée.

FR 2212406 FA 914148

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2012231514 A1	13-09-2012	CA 2772131 A1	03-03-2011
		US 2012231514 A1	13-09-2012
		WO 2011022840 A1	03-03-2011
MX 2007014257 A	14-05-2009	-----	-----