



(12) **DEMANDE DE BREVET CANADIEN
CANADIAN PATENT APPLICATION**

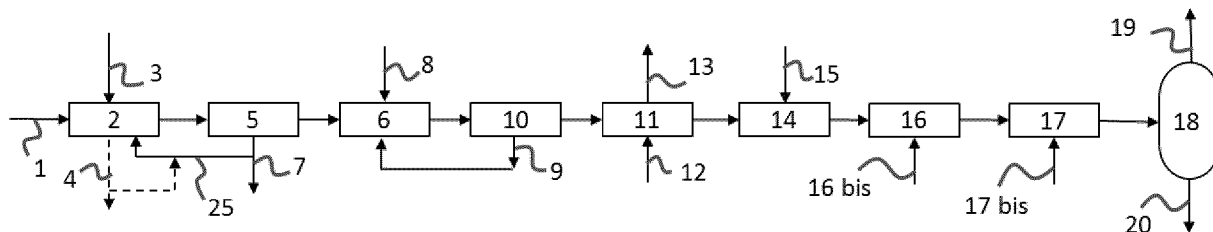
(13) **A1**

(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2020/01/20
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2020/07/30
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2021/06/30
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: EP 2020/051289
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2020/152105
(30) Priorité/Priority: 2019/01/24 (FR1900597)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *C12P 7/10* (2006.01),
C12P 7/16 (2006.01)
(71) Demandeurs/Applicants:
INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE POUR
L'AGRICULTURE, L'ALIMENTATION ET
L'ENVIRONNEMENT, FR;
IFP ENERGIES NOUVELLES, FR
(72) Inventeurs/Inventors:
AYMARD, CAROLINE, FR;
LOUESDON, SEVERINE, FR;
ROUSSET, ROMAIN, FR;
HUDEBINE, DAMIEN, FR
(74) Agent: ROBIC

(54) Titre : PROCÉDE DE TRAITEMENT D'UNE BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE
(54) Title: METHOD FOR TREATING A LIGNOCELLULOSIC BIOMASS

Figure 1



(57) **Abrégé/Abstract:**

L'invention a pour objet un procédé de traitement de biomasse lignocellulosique comprenant les étapes suivantes : a) on conditionne la biomasse lignocellulosique b) on lave lesdites particules; c) on sépare la solution aqueuse des particules de biomasse lavées d) on imprègne ledit substrat lignocellulosique avec une liqueur acide, e) on réalise une séparation solide/liquide du substrat lignocellulosique imprégné f) on prétraite ledit substrat issu de l'étape e) par cuisson, g) on effectue une hydrolyse enzymatique du substrat lignocellulosique prétraité h) on effectue une fermentation : de l'hydrolysats issu de l'étape g) - et on introduit la solution aqueuse de lavage usée dans une étape dudit procédé de traitement de la biomasse qui est postérieure à l'étape f) de prétraitement, et/ou dans une étape de production d'enzymes et/ou dans une étape de production/propagation des microorganismes nécessaires aux étapes g) ou h).

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international(10) Numéro de publication internationale
WO 2020/152105 A1(43) Date de la publication internationale
30 juillet 2020 (30.07.2020)(51) Classification internationale des brevets :
C12P 7/10 (2006.01) C12P 7/16 (2006.01)(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2020/051289(22) Date de dépôt international :
20 janvier 2020 (20.01.2020)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1900597 24 janvier 2019 (24.01.2019) FR(71) Déposants : **IFP ENERGIES NOUVELLES** [FR/FR] ; 1 & 4 avenue du Bois-Préau, 92852 Rueil-Malmaison (FR). **INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE** ; 147 rue de l'Université, 75338 Paris Cedex 07 (FR).(72) Inventeurs : **AYMARD, Caroline** ; 1 & 4 avenue du Bois-Préau, 92852 Rueil-Malmaison (FR). **LOUESDON, Severine** ; 1 & 4 avenue du Bois-Préau, 92852 Rueil-Malmaison (FR). **ROUSSET, Romain** ; 1 & 4 avenue du Bois-Préau, 92852 Rueil-Malmaison (FR). **HUDEBINE, Damien** ; 1 & 4 avenue du Bois-Préau, 92852 Rueil-Malmaison (FR).(74) Représentant commun : **IFP ENERGIES NOUVELLES**
; 1 & 4 avenue du Bois-Préau, 92852 Rueil-Malmaison (FR).

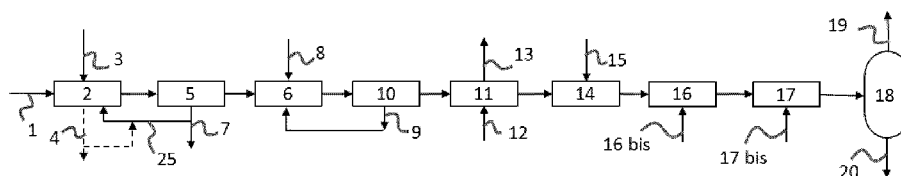
(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: METHOD FOR TREATING A LIGNOCELLULOSIC BIOMASS

(54) Titre : PROCÉDE DE TRAITEMENT D'UNE BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE

Figure 1



(57) Abstract: The aim of the invention is a method for treating lignocellulosic biomass comprising the following steps: a) conditioning the lignocellulosic biomass; b) washing said particles; c) separating the aqueous solution from the washed biomass particles; d) impregnating said lignocellulosic substrate with an acid liquor; e) undertaking solid/liquid separation of the impregnated lignocellulosic substrate; f) pretreating said substrate originating from step e) by cooking; g) completing an enzymatic hydrolysis of the pretreated lignocellulosic substrate; h) fermenting the hydrolysate originating from step g); and - introducing the used aqueous washing solution into a step of said method for treating the biomass following the pretreating step f), and/or into a step of producing enzymes, and/or into a step of producing/propagating microorganisms that are needed in steps g) or h).

(57) Abrégé : L'invention a pour objet un procédé de traitement de biomasse lignocellulosique comprenant les étapes suivantes : a) on conditionne la biomasse lignocellulosique b) on lave lesdites particules; c) on sépare la solution aqueuse des particules de biomasse lavées d) on imprègne ledit substrat lignocellulosique avec une liqueur acide, e) on réalise une séparation solide/liquide du substrat lignocellulosique imprégné f) on prétraite ledit substrat issu de l'étape e) par cuisson, g) on effectue une hydrolyse enzymatique du substrat lignocellulosique prétraité h) on effectue une fermentation de l'hydrolysate issu de l'étape g) - et on introduit la solution aqueuse de lavage usée dans une étape dudit procédé de traitement de la biomasse qui est postérieure à l'étape f) de prétraitement, et/ou dans une étape de production d'enzymes et/ou dans une étape de production/propagation des microorganismes nécessaires aux étapes g) ou h).



WO 2020/152105 A1

WO 2020/152105 A1 

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

- *relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17(iii))*

Publiée:

- *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*

PROCEDE DE TRAITEMENT D'UNE BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE

Domaine technique

La présente invention s'inscrit dans le domaine des procédés de production de sucres à partir de biomasses lignocellulosiques. Elle concerne plus particulièrement un procédé de traitement de biomasse lignocellulosique pour la production d'alcools ou de solvants utiles comme biocarburants (par exemple l'éthanol) ou pour la synthèse de molécules bio-sourcées. Le procédé de traitement selon l'invention peut intégrer un prétraitement par explosion à la vapeur ou cuisson acide de la biomasse lignocellulosique.

Technique antérieure

La biomasse lignocellulosique est composée de trois principaux constituants : la cellulose (35 à 50%), l'hémicellulose (23 à 32%) qui est un polysaccharide essentiellement constitué de pentoses et d'hexoses et la lignine (15 à 25%) qui est une macromolécule de structure complexe et de haut poids moléculaire, provenant de la copolymérisation d'alcools phénylpropénoïques. Ces différentes molécules sont responsables des propriétés intrinsèques de la paroi végétale et s'organisent en un enchevêtrement complexe.

La cellulose, majoritaire dans cette biomasse, est ainsi le polymère le plus abondant sur Terre et celui qui présente le plus grand potentiel pour former des matériaux et des biocarburants. Cependant le potentiel de la cellulose et de ses dérivés n'a pas pu, pour le moment, être complètement exploité, majoritairement en raison de la difficulté d'extraction de la cellulose. En effet, cette étape est rendue difficile par la structure même des plantes. Les verrous technologiques identifiés à l'extraction et à la transformation de la cellulose sont notamment son accessibilité, sa cristallinité, son degré de polymérisation, la présence de l'hémicellulose et de la lignine.

Le principe du procédé de conversion de la biomasse lignocellulosique par des procédés biotechnologiques utilise une étape d'hydrolyse enzymatique de la cellulose contenue dans les matières végétales pour produire du glucose.

Le glucose obtenu peut ensuite être fermenté en différents produits tels que des alcools (éthanol, 1,3-propanediol, 1-butanol, 1,4-butanediol, ...) ou des acides (acide acétique, acide lactique, acide 3-hydroxypropionique, acide fumarique, acide succinique, ...).

La cellulose et éventuellement les hémicelluloses sont les cibles de l'hydrolyse enzymatique mais ne sont pas directement accessibles aux enzymes. C'est la raison pour laquelle ces substrats doivent subir un prétraitement précédant l'étape d'hydrolyse enzymatique. Le prétraitement vise à modifier les propriétés physiques et physico-chimiques du matériau lignocellulosique, en vue d'améliorer l'accessibilité de la cellulose emprisonnée au sein de la matrice de lignine et d'hémicellulose. Un des prétraitements les plus efficaces est l'explosion

à la vapeur, qui permet une hydrolyse presque totale de l'hémicellulose et une amélioration importante de l'accessibilité et la réactivité de la cellulose aux enzymes. Ce prétraitement peut être précédé d'autre(s) traitement(s) tels qu'une imprégnation acide. La biomasse imprégnée d'une solution aqueuse, avec ou sans acide, est traitée en continu avec de la vapeur dans un réacteur sous pression et en température afin de déstructurer principalement l'hémicellulose.

La biomasse prétraitée est composée de solide (cellulose et lignine principalement) et de sucres solubles dans l'eau. Dans certaines configurations de procédés, une fraction du solide prétraité est envoyée dans une étape d'extraction des sucres solubles pour récupérer un jus sucré. Par exemple, le document « Lignocellulosic Biomass to Ethanol Process Design and Economics Utilizing Co-Current Dilute Acid Prehydrolysis and Enzymatic Hydrolysis for Corn Stover », Aden et al. NREL/TP-510-32438 enseigne la séparation de la biomasse prétraitée en une fraction solide et une fraction liquide. Ce jus riche en sucres peut ensuite être utilisé comme source de carbone dans les unités de production d'enzymes et de propagation des levures. Le substrat prétraité appauvri en sucres solubles peut être dirigé vers l'étape d'hydrolyse enzymatique conjointement au marc brut sortant de l'unité de prétraitement.

L'hydrolyse enzymatique vise à convertir le substrat prétraité en sucres monomériques. Le cocktail enzymatique utilisé pour cette étape est un mélange d'enzymes cellulolytiques et/ou hémicellulolytiques capables de décomposer la cellulose en solution de sucres, contenant notamment du glucose. Les enzymes du cocktail enzymatique contiennent trois grands types d'enzymes selon leurs activités : les endoglucanases, les exoglucanases et les cellobiases. Le microorganisme le plus utilisé pour la production du cocktail enzymatique est le champignon *Trichoderma reesei*. Le procédé de production du cocktail enzymatique débute par une phase de propagation dont le but est de multiplier le champignon filamenteux *T. reesei*. Une fois la concentration en champignon suffisante pour produire un cocktail enzymatique assez concentré, une phase de production de cocktail enzymatique est induite par un changement de substrat sucré. A l'issue de ce procédé fermentaire, on obtient un moût contenant un mélange d'enzymes et de champignon filamenteux *T. reesei*. Ce moût peut être utilisé directement en hydrolyse enzymatique, ou bien les enzymes peuvent être séparées du champignon puis éventuellement concentrées.

La fermentation des sucres issus de l'hydrolyse enzymatique en différents produits tels que des alcools, des solvants ou des acides nécessite l'utilisation de biocatalyseurs (bactéries ou levures). Bien que la cible principale de l'étape de fermentation soit la conversion des sucres en bioproduits, et que les conditions de l'étape de fermentation soient choisies pour favoriser cette voie métabolique, la conduite d'une étape de fermentation implique nécessairement des réactions parallèles visant au développement et au maintien des micro-organismes

fermentaires. Par exemple, Pasteur a montré au 19^e siècle qu'environ 5% des sucres sont convertis en coproduits, ou utilisés pour la maintenance et la croissance cellulaire, dans le cas de la fermentation du glucose en éthanol par la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Le jus sucré issu de l'étape d'extraction du marc prétraité peut être utilisé partiellement ou complètement pour la production des biocatalyseurs. Ce substrat riche en sucres est mis en contact avec un inoculum de levures ou bactéries dans des conditions favorables à leur multiplication. La production de biocatalyseur nécessite l'apport de composés carbonés et azotés mais également des éléments minéraux, vitamines. Les besoins varient selon le type de biocatalyseur considéré. En fin de croissance, le moût obtenu contenant les levures ou bactéries est directement utilisé sans séparation dans l'étape de fermentation, ou alternativement ce moût peut être concentré, par exemple par centrifugation.

Ces procédés de production d'alcool pour produire notamment du biocarburant (éthanol) par voie fermentaire comprennent donc de façon connue la succession d'étapes suivantes : broyage de la biomasse, éventuellement une imprégnation de la biomasse, puis prétraitement par explosion à la vapeur ou cuisson en conditions acides, hydrolyse enzymatique pour produire des sucres ou des molécules bio-sourcées et fermentation alcoolique pour produire des alcools biocarburants tel que l'éthanol ou autre type de fermentation pour produire des molécules bio-sourcées, l'éthanol (ou les biocarburants ou molécules bio-sourcées) étant séparé ensuite par exemple par distillation.

Le brevet US 8,545,633 décrit un tel procédé de production d'éthanol avec des conditions opératoires classiques pour ces étapes, conditions qui sont connues de l'homme du métier. Ce brevet enseigne plus particulièrement des méthodes de traitement de la biomasse broyée avant l'imprégnation.

Une première méthode de traitement est une injection de vapeur d'eau (dite « pre-steaming » selon un terme anglo-saxon connu) dans les particules de biomasse broyée pour homogénéiser la biomasse et éviter la formation de poches qui s'imprègnent mal. Ce traitement est réalisé avec une vapeur à 110°C ou plus et à au moins 1,3 bars absolus (5 psig) à raison de 10 à 20 kg/h pendant 5 à 30 mn. Une faible quantité d'acide dilué peut être introduite, par exemple 0,5 à 15 g acide/kg de biomasse.

Une autre méthode consiste à retirer de la biomasse la fraction de particules fines riche en cendres. Les fines sont séparées par une séparation physique basée sur la granulométrie, et ces fines sont plus riches en « cendres » que la biomasse initiale. Ces « cendres » sont des minéraux : silice, composés contenant du calcium, du magnésium, du sodium, du potassium, du phosphore et/ou de l'aluminium. Lors de l'imprégnation acide, les cendres peuvent consommer l'acide pour former des sels, ce qui oblige à augmenter la quantité d'acide lors

de l'imprégnation. Elles représentent 1 à 10% poids de la biomasse, une partie d'entre elles est insoluble dans l'acide (la silice est la part prépondérante des insolubles).

Une méthode pour mesurer les cendres de produits lignocellulosiques est par exemple décrite dans la norme ASTM E1755 « Standard Test Method for Ash in Biomass ». Ce même document décrit deux procédés pour enlever ces cendres, à savoir le lavage à l'eau, qui est déconseillé, et un traitement par voie sèche, qui est préconisé.

Le procédé par voie sèche utilise les techniques de séparation par jet d'air ou cyclone, par tamisage à sec, filtration à sec, sédimentation en plusieurs étapes, chacune séparant des particules de plus en plus fines, les cendres se retrouvant dans les particules les plus petites. Ainsi 95% des particules de biomasse envoyées à l'imprégnation ont une taille supérieure à 250 μ m et au moins 60% d'entre elles ont une taille inférieure à 4mm. Le but de ce type de séparation est d'obtenir en vue de l'imprégnation, une biomasse ayant une teneur en cendres inférieure à 10% poids, ce qui correspond à une réduction d'au plus 75% de la teneur initiale en cendres, et dans ces cendres, au moins 40% sont des cendres solubles dans l'acide (utilisé pour l'imprégnation). La teneur en eau de la biomasse est d'au plus 20% poids, ce qui correspond à une teneur en matière sèche d'au moins 80% poids.

Le procédé par lavage à l'eau, et même l'utilisation d'eau dans le procédé par voie sèche, est fortement déconseillé dans le brevet US 8,545,633 pour plusieurs raisons. En effet, l'eau peut dissoudre les composés solubles de la biomasse, tels que la cellulose, l'hémicellulose et l'amidon, ce qui réduit les rendements en sucres et éthanol. Par ailleurs, la quantité d'eau absorbée par la biomasse étant importante, il en résulterait d'une part, une dispersion dégradée de l'acide dans la biomasse lors de l'imprégnation et d'autre part, la nécessité d'utiliser des concentrations bien plus fortes en acide, d'où des risques de corrosion plus importants. De plus, les quantités d'eau et d'acide résultantes à retraiter sont conséquentes et induisent des surcoûts importants.

Résumé de l'invention

Complètement à l'opposé de l'enseignement du brevet US 8,545,633, le procédé de traitement de la biomasse lignocellulosique selon l'invention met en œuvre un lavage à l'eau avant l'étape d'imprégnation, avec un lavage qui est mené dans des conditions déterminées, permettant d'éviter les inconvénients présentés ci-dessus tout en réduisant la consommation d'acide utilisé pour l'étape d'imprégnation, où l'on exploite en outre avantageusement l'eau usée issue du lavage.

L'invention a pour objet un procédé de traitement de biomasse lignocellulosique comprenant les étapes suivantes successives :

- a) on conditionne la biomasse lignocellulosique par au moins une étape de broyage, notamment de façon à obtenir des particules de biomasse broyée ayant une taille d'au plus 300 mm;
 - b) on lave lesdites particules avec une solution aqueuse de pH compris entre 4 et 8,5, à une température comprise entre 10 et 95°C, à pression atmosphérique, et pendant une durée comprise entre 1 et 300 minutes;
 - c) on sépare la solution aqueuse des particules de biomasse lavées pour obtenir, d'une part, un substrat lignocellulosique ayant un taux de matière sèche compris entre 15 et 70% poids, et, d'autre part, une solution aqueuse de lavage usée ;
 - d) on imprègne ledit substrat lignocellulosique avec une liqueur acide, de façon à obtenir un substrat lignocellulosique imprégné ayant un pH compris entre 0,1 et 3;
 - e) on réalise une séparation solide/liquide du substrat lignocellulosique imprégné, pour obtenir, d'une part, un substrat lignocellulosique ayant un taux de matière sèche compris entre 15% poids et 70% poids, et, d'autre part, un effluent liquide;
 - f) on prétraite ledit substrat lignocellulosique imprégné issu de l'étape e) par cuisson, notamment pendant une durée comprise entre 1 et 120 minutes, de façon à obtenir un substrat lignocellulosique prétraité,
 - g) on effectue une hydrolyse enzymatique du substrat lignocellulosique prétraité par des enzymes produits à partir de microorganismes de type champignons, de manière à obtenir un hydrolysât contenant des sucres;
 - h) on effectue une fermentation, par des microorganismes de type bactéries ou levures, de l'hydrolysât issu de l'étape g) pour obtenir un moût de fermentation contenant au moins une molécule biosourcée telle qu'un solvant et/ou un alcool;
- optionnellement on intègre audit procédé une étape de production d'enzymes et/ou une étape de production/propagation des micro-organismes nécessaires aux étapes g) ou h) ;
 - et on introduit au moins une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans une étape dudit procédé de traitement de la biomasse qui est postérieure à l'étape f) de prétraitement, et/ou dans une étape de production d'enzymes et/ou dans une étape de production/propagation des micro-organismes nécessaires aux étapes g) ou h) quand au moins une de ces étapes de production d'enzymes et/ou de production/propagation de microorganismes est intégrée audit procédé de traitement de biomasse.

Dans le cadre de l'invention, le taux de matière sèche (MS) est mesuré selon la norme ASTM E1756 - 08(2015) « Standard Test Method for Determination of Total Solids in Biomass ».

On comprend par « au moins une partie de la solution de lavage usée, soit la totalité de la dite solution : on recycle ainsi 100% de cette solution dans le procédé dans les étapes mentionnées plus haut, soit une portion seulement, le reste étant simplement purgé ou recyclé à une étape différente du procédé de celles mentionnées plus haut.

Il est également conforme à l'invention de recycler la totalité de cette solution dans au moins deux étapes choisies selon l'invention (après le prétraitement, et/ou production d'enzymes, et/ou production de microorganismes).

L'invention propose donc d'ajouter un lavage de la biomasse avec une solution aqueuse, puis une séparation solide/liquide, avant de procéder au prétraitement, et, en outre, d'exploiter l'eau de lavage qui en résulte, avec un double avantage. La biomasse ainsi lavée puis séparée se trouve appauvrie en cendres, ce qui va permettre de diminuer significativement la consommation en acide du procédé lors de l'étape d'imprégnation. A contrario, l'eau de lavage usée, elle, va s'enrichir en cendres, et cette caractéristique permet de l'exploiter dans des étapes du procédé où la présence de minéraux en phase liquide est un atout, comme détaillé plus loin.

Et, de façon étonnante et contrairement à l'enseignement de l'art antérieur, ce lavage, fait dans les conditions spécifiques préconisées dans l'invention, n'a pas entraîné de surconsommation excessive en eau ou autres problèmes de mise en œuvre. On notera, notamment, que le pH de la solution de lavage est à ajuster à au moins 4 (donc à un pH minimum bien différent, bien supérieur, au pH d'imprégnation acide), et qui peut être modérément acide, modérément basique ou neutre. Un tel pH, modéré, de la solution de lavage s'est avéré particulièrement adapté, et a justifié notamment le choix fait dans l'invention de réutiliser la solution de lavage usée après l'étape de prétraitement, dans des étapes où le pH n'est pas très acide.

Le fait que le lavage se fasse à pression atmosphérique assure qu'on est bien en présence d'une solution aqueuse en phase liquide, pas d'une vapeur. La durée du lavage, d'au plus 300 minutes, permet d'obtenir l'appauvrissement voulu de la biomasse en cendres, sans trop impacter le temps de production global. La température de lavage est dans une gamme permettant soit d'utiliser des outillages et une solution aqueuse à température ambiante, soit de chauffer modérément, par exemple, uniquement la solution aqueuse, selon le type de biomasse notamment.

De préférence, selon un premier mode de réalisation, on introduit au moins une partie, ou la totalité, de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans l'étape d'hydrolyse enzymatique g) ou dans l'étape de fermentation h).

Il s'est avéré que c'est dans l'étape de fermentation que l'introduction de l'eau de lavage usée est la plus bénéfique : cette introduction peut se faire directement dans l'étape de fermentation h), ou peut se faire en amont de l'étape de fermentation, dans les étapes de neutralisation (si celle-ci est prévue) ou d'hydrolyse enzymatique : les sels minéraux restant sont ainsi transférés dans l'étape de fermentation où ils peuvent jouer leur rôle. Les sels peuvent cependant être au moins en partie modifiés lorsqu'ils sont introduits dès l'hydrolyse enzymatique ou dès la neutralisation, du fait de l'évolution du pH du milieu réactionnel. Les minéraux sont notamment intéressants pour les réactions parallèles visant à la maintenance et/ou à la croissance du microorganisme mis en œuvre dans l'étape de fermentation.

Selon un mode de réalisation, le procédé selon l'invention comprend également une étape de neutralisation du substrat lignocellulosique prétraité à l'étape f), avant ou pendant l'étape g) d'hydrolyse enzymatique, et on introduit au moins une partie, ou la totalité, de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans ladite étape de neutralisation.

De préférence, l'étape de neutralisation est opérée de sorte que le pH du mélange réactionnel d'hydrolyse enzymatique soit compris de préférence entre 4 et 6. On voit ainsi que la solution aqueuse usée présente un pH compatible avec celui visé dans cette étape de neutralisation.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé comprend également une étape intégrée de production par des microorganismes du type champignons des enzymes nécessaires à l'hydrolyse enzymatique de l'étape g), et on introduit au moins une partie, ou la totalité, de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans ladite étape de production d'enzymes.

On comprend dans tout le présent texte comme étape « intégrée » au procédé de l'invention une étape de production d'un composé destiné à traiter la biomasse, comme une enzyme ou une levure, avant sa mise en contact avec ladite biomasse, dans la même installation ou au voisinage de l'installation mettant en œuvre le traitement de la biomasse : il s'agit ainsi de fabriquer « in situ » des composés d'origine biologique qui seront utilisés dans le traitement de la biomasse (alternativement, ces composés d'origine biologique peuvent être fabriqués hors site, et amenés dans l'installation de traitement de biomasse).

Selon un mode de réalisation, le procédé selon l'invention comprend également une étape intégrée de propagation de microorganismes du type bactéries ou levures nécessaires à la fermentation de l'étape h), et on introduit au moins une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans ladite étape de propagation.

Dans le cas de la production d'enzymes comme dans celui de la production de bactéries ou de levures mentionnées plus haut, l'utilisation de la solution aqueuse de lavage usée est très avantageuse, car son pH modéré est compatible avec celui visé dans les milieux réactionnels impliqués (notamment un pH modérément acide). Et en outre, il s'avère que cette solution enrichie en minéraux est favorable à la production des enzymes ou microorganismes visés, ces minéraux constituant des nutriments pour les microorganismes concernés.

De préférence, la durée de l'étape de lavage b) est comprise entre 1 et 60 minutes, et de préférence entre 1 et 15 minutes. Il s'est avéré que ce lavage pouvait être performant même avec une faible durée, ce qui est un atout industriellement.

De préférence, la solution aqueuse de l'étape b) de lavage des particules a un pH compris entre 5,5 et 7,5, notamment entre 6 et 7,5 ou entre 6,5 et 7,5. Dans un mode de réalisation préféré, la solution aqueuse de lavage est donc proche d'un pH neutre, ce qui permet d'utiliser simplement de l'eau sans ajout d'acide ou de base, sans diminuer les performances du lavage.

De préférence, la solution aqueuse de l'étape b) de lavage des particules est à une température comprise entre 25 et 95°C, notamment entre 30 et 60°C. Selon les conditions thermiques dans l'installation, on peut donc réaliser ce lavage à température ambiante ou avec un chauffage modéré, notamment apporté en chauffant la solution avant mise en contact avec la biomasse (ou par un recyclage d'eau provenant d'une autre étape du procédé, eau se trouvant de fait dans cette gamme de température sans appoint thermique supplémentaire).

Avantageusement, la quantité de solution aqueuse amenée à l'étape b) de lavage est comprise entre 0,5 et 60 g/g biomasse. Elle est de préférence comprise entre 1 et 30 g/g biomasse, et notamment comprise entre 1,5 et 20 g/g biomasse.

Selon l'invention, on peut, en outre, réintroduire une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans l'étape de lavage b).

Selon une variante préférée de l'invention, les étapes g) d'hydrolyse enzymatique et h) de fermentation sont concomitantes, on parle alors de SSCF pour l'acronyme anglo-saxon de « Simultaneous saccharification and co-fermentation » en anglais.

Optionnellement, on peut introduire dans l'étape b) de lavage une partie de l'effluent liquide issu de l'étape e). Cet effluent étant acide, son apport est à modérer pour rester dans une gamme de pH appropriée pour la solution de lavage.

Selon un mode de réalisation de l'invention, à l'étape f) on réalise un prétraitement par explosion à la vapeur pour obtenir une vapeur et le substrat lignocellulosique prétraité, on condense la vapeur issue de l'étape f) de manière à produire un condensat acide. Le prétraitement par explosion à la vapeur dure de préférence au plus 30 minutes, notamment au plus 15 minutes.

On peut introduire dans l'étape b) de lavage au moins une partie du condensat acide seul ou en mélange avec de l'eau. L'apport en condensat est à ajuster pour que la solution de lavage reste dans la gamme de pH préconisée.

De préférence, lesdites particules de biomasse, une fois broyées à l'étape a) ont une taille d'au moins 1 mm.

De préférence, le substrat lignocellulosique issu de l'étape c) est envoyé directement à l'étape d'imprégnation d).

Le substrat lignocellulosique issu de l'étape c) présente de préférence un taux de matière sèche compris entre 25 à 70% poids, de manière plus préférée compris entre 40 et 65% poids.

De préférence, l'étape d'imprégnation d) est réalisée en une seule étape avec un temps de séjour de 10 secondes à 180 minutes.

De préférence, le substrat lignocellulosique issu de l'étape e) a un taux de matière sèche compris entre 40 et 65% poids.

Dans une variante de réalisation déjà évoquée plus haut, le procédé comprend aussi des étapes intégrées de production de biocatalyseurs : champignon, enzymes, bactéries ou

levures. Ces étapes de production peuvent de préférence être réalisées avec une croissance du ou des microorganismes à partir d'un jus sucré issu du procédé de traitement de la biomasse. Ce jus sucré peut être extrait après l'étape de prétraitement f), il contient alors des sucres monomères issus de la solubilisation des hémicelluloses qui se déroule au cours du prétraitement f). Ce jus sucré peut être extrait après l'étape d'hydrolyse enzymatique g), il contient alors aussi le glucose monomère qui est le produit de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose. De manière préférée, l'extraction du jus sucré se fait entre l'étape de prétraitement f) et l'étape d'hydrolyse enzymatique g). L'extraction du jus sucré peut se faire au moyen d'un lavage du substrat prétraité. Avantageusement, au moins une partie du flux servant au lavage peut être l'eau de lavage usée issue de l'étape c).

L'invention prévoit donc optionnellement qu'on intègre audit procédé une étape de production d'enzymes et/ou une étape de production/propagation des micro-organismes nécessaires aux étapes g) ou h), et qu'on prévoit une étape d'extraction d'une partie au moins des jus sucrés obtenus après l'étape de prétraitement f) ou après l'étape d'hydrolyse enzymatique g), notamment par lavage du substrat par une solution aqueuse. Dans ce cas de figure, de préférence, on peut introduire une partie au moins de la solution aqueuse de lavage usée issue de l'étape c) pour l'extraction par lavage des jus sucrés.

Le procédé selon l'invention peut être mis en œuvre pour la production d'éthanol ou d'un mélange acétone-butanol-éthanol (ABE) ou un mélange isopropanol-butanol-éthanol (IBE) ou de toute autre molécule biosourcée ou solvant, comme l'acétone.

Liste des figures

La figure 1 représente un schéma bloc représentant un mode de réalisation du procédé de production de solvants et/ou d'alcools à partir de biomasse lignocellulosique intégrant une étape de lavage b) de la biomasse broyée selon l'invention.

La figure 2 est un schéma bloc représentant un mode de réalisation du procédé de traitement de la biomasse lignocellulosique intégrant un recyclage de différents effluents acides.

La figure 3 est un schéma bloc représentant un mode de réalisation du procédé de production d'alcools et/ou solvants à partir de biomasse lignocellulosique intégrant un recyclage de l'eau utilisée pour le lavage de la biomasse broyée, dans les étapes aval de neutralisation et/ou hydrolyse enzymatique et/ou fermentation selon l'invention.

La figure 4 est un schéma bloc représentant encore un autre mode de réalisation du procédé de production de solvants et/ou d'alcools selon l'invention qui comprend des unités de

production in situ d'enzymes et de levures; intégrant un recyclage de l'eau utilisée pour le lavage de la biomasse broyée vers les productions de biocatalyseurs et/ou pour l'extraction d'un jus sucré au moins en partie utilisé pour la production de biocatalyseurs.

La figure 5 montre les courbes de titrage acido-basique des liqueurs de l'exemple 1.

La figure 6 montre l'évolution du pH en fonction du volume spécifique de solution d'acide sulfurique H_2SO_4 ajoutée aux liqueurs usées d'imprégnation de l'exemple 2.

La figure 7 montre l'évolution de l'absorbance au cours de la croissance de levures dans les milieux de culture avec ou sans minéraux de l'exemple 5.

Description des modes de réalisation

Sont détaillées ci-après les différentes étapes de traitement de biomasse conformément à un mode de réalisation de l'invention décrite précédemment :

Etape a) de conditionnement de la biomasse lignocellulosique

Le procédé de traitement comporte dans sa première étape, une étape de conditionnement de la biomasse lignocellulosique avec au moins un broyage de façon à obtenir des particules de biomasse ayant une taille d'au plus 300 mm. Il est bien entendu possible de procéder à plusieurs étapes de broyage successives afin d'atteindre la taille de particule visée. De façon générale, la biomasse broyée présente une taille de particule (la plus grande taille) d'au plus 300 mm, le plus souvent d'au moins 1 mm, et souvent comprise entre 2 et 200 mm. Toute méthode connue de l'homme du métier peut être mise en œuvre pour réaliser cette étape. Le plus souvent, le broyage des pailles se fait avec des grilles de 5 à 100 mm. Quant au bois, il est généralement déchiqueté en plaquettes parallélépipédiques avec une longueur comprise entre 20 et 160 mm, une largeur comprise entre 10 et 100 mm et une épaisseur comprise entre 2 et 20 mm.

La biomasse lignocellulosique broyée est amenée à l'étape (zone) de lavage par tout moyen connu de l'homme du métier, en particulier une vis de transfert.

Etape b) de lavage de la biomasse lignocellulosique broyée

Il est nécessaire de procéder à une étape d'imprégnation acide de la biomasse afin d'augmenter sa réactivité à l'étape de prétraitement. Toutefois, dans le cas de certaines biomasses lignocellulosiques telles que la paille et le miscanthus, une surconsommation d'acide a été observée au cours de cette étape d'imprégnation. Selon l'art antérieur, elle serait associée au caractère basique de ces biomasses qui nécessitent un excédent d'acide pour neutraliser les éléments basiques constitutifs de la biomasse.

La demanderesse a maintenant trouvé que l'effet déterminant sur la consommation d'acide ne serait pas un effet de basicité mais plutôt un effet tampon dû à la présence de l'acide acétique ou de ses sels qui sont générés par la solubilisation des cendres contenues dans la

biomasse lignocellulosique broyée lors de sa mise en contact avec la solution aqueuse acide utilisée pour l'étape d'imprégnation.

Du fait du pKa élevé (4,76 à 25 °C) de l'acide acétique par rapport au pH de la solution acide d'imprégnation (pH<3 et le plus souvent inférieur à 2), l'acide acétique a un effet tampon sur le pH, nécessitant d'apporter de fortes quantités d'acide pour amener le pH à une valeur compatible avec l'étape de prétraitement acide, qui est généralement comprise entre 0,1 et 3. Selon l'invention, on met en œuvre une étape de lavage (étape b) des particules de biomasse broyée avec une solution aqueuse de lavage, à une température comprise entre 10 et 90°C, de préférence à pression atmosphérique.

Le pH de la solution aqueuse de lavage est compris entre 4 et 8,5, et plus préférentiellement entre 6 et 7,5. La solution aqueuse de lavage peut être acidifiée, avantageusement par l'acide d'imprégnation qui est employé à l'étape d'imprégnation d) détaillée ci-après. Alternativement et de préférence, l'acide éventuel n'est pas ajouté à l'eau de lavage par un appoint extérieur, mais provient d'un flux du procédé contenant ledit acide. Dans le cadre de l'invention, il n'est pas nécessaire d'ajouter d'autres composés (basique, complexant...) à la solution aqueuse de lavage utilisée à l'étape b). La solution aqueuse de lavage peut aussi être simplement de l'eau (pH neutre). La solution aqueuse peut être un flux aqueux recyclé du procédé. On note également que, selon l'invention, l'étape b) de lavage est réalisée en l'absence d'eau à l'état vapeur.

Tous les modes de lavage en une seule étape ou en plusieurs étapes suivant un mode co-courant, contre-courant ou courant croisés sont possibles. A titre d'illustration, le lavage peut être réalisé par trempage, par exemple par transfert de la biomasse à travers un bain d'eau, ou bien sous écoulement d'eau par exemple par une distribution d'eau ruisselant sur la biomasse qui est éventuellement mise en mouvement.

La quantité d'eau mise en jeu pour cette étape est de préférence la plus faible possible pour obtenir l'effet souhaité. Le lavage est pratiqué en utilisant entre 0,5 et 60 g d'eau/g de biomasse lignocellulosique, de préférence entre 1 et 30 g d'eau /g de biomasse et plus préférentiellement entre 1,5 et 20 g d'eau/g de biomasse. Par exemple, on peut déterminer la quantité d'eau de lavage à employer au moyen d'un test en laboratoire précédant la campagne de traitement de la biomasse et consistant à mesurer le pH de l'eau de lavage usée (ou filtrat) récupérée après l'étape de lavage.

De manière préférée, le ou les outils réalisant le lavage ne disposent pas d'équipements de chauffe, et la température du lavage est régulée par la température de la solution aqueuse de lavage. La température de la solution aqueuse de lavage est comprise entre 25°C et 95°C et préférentiellement entre 30°C et 60°C, elle peut donc être juste à température ambiante, ou avoir été chauffée, pour cette étape de lavage spécifique ou parce qu'elle provient, au

moins en partie, du recyclage d'effluents liquides produits dans le procédé et se trouvant déjà dans cette gamme de température.

La durée du lavage est comprise entre 1 minute et 300 minutes, et préférentiellement entre 1 minute et 60 minutes, et encore plus préférentiellement entre 1 minute et 15 minutes.

Etape c) de séparation de l'eau de lavage usée

Le procédé comporte une étape de séparation du liquide des particules de biomasse lignocellulosique lavée pour obtenir un substrat lignocellulosique dont le taux de matière sèche est compris entre 15 et 70% poids (mesuré selon la norme ASTM E1756), de préférence comprise entre 25 et 70% et manière plus préférée comprise entre 40% et 65% poids.

Toute méthode de séparation liquide/solide peut être utilisée, pourvu que le taux de matière sèche à l'issue de cette étape soit respecté. Par exemple, la séparation solide/liquide est assurée par un outil de type filtre-presse ou réalisée par égouttage, par exemple gravitaire.

De préférence, l'étape de séparation de l'eau de lavage usée est réalisée de façon concomitante au transfert de la biomasse lignocellulosique lavée vers l'étape d'imprégnation, au moyen d'une vis de transport comprenant une zone de séparation solide/liquide par pressage de la matière solide. Ce type de vis de transfert, appelée « sealing screw feeder » ou « plug screw feeder » selon la terminologie anglo-saxonne, comporte une zone conique de compression permettant la formation d'un bouchon hermétique de biomasse lavée et une zone perforée permettant l'évacuation de l'eau de lavage usée.

Lorsqu'en marche normale l'outil choisi pour réaliser cette séparation ne permet pas d'extraire directement un échantillon de la biomasse, le taux matière sèche (MS) peut être déterminé par calcul : on considère alors que la MS contenu dans l'échantillon pressé est la différence entre la MS de la biomasse lavée en entrée et la MS présente dans le jus extrait au pressage, le calcul nécessite donc une mesure des débits massiques de la biomasse lavée en entrée et du jus extrait, et les mesures de MS d'échantillons de biomasse lavée en entrée et de jus extrait en sortie (par exemple selon la même norme ASTM E1756). Le calcul se fait comme suit : soit QBE la quantité massique de biomasse en entrée, %MSBE la teneur en matière sèche exprimée en % de la biomasse lavée en entrée, soit QJS la quantité massique de jus extrait et %MSJS la teneur en matière sèche exprimée en % du jus extrait, on obtient la teneur en MS du substrat pressé par différence en appliquant la formule :

$$\text{MS substrat pressé} = (QBE * \%MSBE - QJS * \%MSJS) / (QBE - QJS)$$

L'étape c) de séparation permet ainsi de fournir une eau de lavage usée dont une partie au moins peut avantageusement être utilisée dans une étape aval, notamment l'étape aval de fermentation, suivant le procédé de traitement de la biomasse lignocellulosique selon

l'invention comme décrit ci-après en référence aux figures 1 à 4 détaillées plus loin. Une partie de l'eau de lavage usée peut être recyclée à l'étape b) de lavage du procédé et l'autre partie utilisée dans une étape aval. L'eau de lavage usée peut éventuellement être mélangée à un autre filtrat issu d'une autre étape du procédé, avant d'être recyclée par exemple dans l'étape b) de lavage.

L'étape de séparation c) peut être réalisée en une ou plusieurs étapes. L'étape de séparation c) peut aussi être réalisée de manière concomitante à l'étape de lavage b), dans un outil permettant de réaliser le lavage et la séparation solide/liquide en une seule étape. Cet outil peut être par exemple un tambour rotatif ou un filtre à bande.

Le substrat lignocellulosique issu de l'étape de séparation de la biomasse lavée est envoyé à l'étape d) d'imprégnation d'une liqueur acide. De préférence, le substrat lignocellulosique est envoyé directement à l'étape d'imprégnation, c'est-à-dire qu'il ne subit aucun autre traitement avant l'étape d'imprégnation.

Etape d) d'imprégnation d'une liqueur acide

Le procédé de traitement selon l'invention comporte une étape d) d'imprégnation du substrat lignocellulosique avec une liqueur acide, de façon à obtenir un substrat lignocellulosique lavé et imprégné dont le pH est compris entre 0,1 à 3. Cette étape vise à préparer le substrat lignocellulosique pour l'étape de prétraitement.

L'imprégnation est réalisée dans un réacteur d'imprégnation à une température comprise entre 10 et 90°C, et de préférence à pression atmosphérique. De manière préférée, l'imprégnation est réalisée à une température entre 50°C et 85°C. Le temps de séjour du substrat lignocellulosique dans le réacteur d'imprégnation est habituellement de 10 secondes à 180 minutes, de préférence entre 30 secondes et 60 minutes, et encore plus préférentiellement entre 30 secondes et 15 minutes. De préférence, l'étape d'imprégnation est effectuée en une seule étape. De préférence, le substrat lignocellulosique lavé et imprégné a un pH compris entre 0,9 à 2,5.

Le réacteur d'imprégnation ou imprégnateur est généralement muni d'une ou plusieurs vis qui transfère(nt) le substrat lignocellulosique depuis son entrée vers l'ouverture de sortie. L'imprégnateur est par ailleurs équipé d'une ou plusieurs conduites pour amener la liqueur acide ainsi que, si besoin, d'une ou plusieurs conduites pour soutirer de la liqueur acide. Lesdites conduites d'entrée et de sortie de la liqueur acide sont généralement installées de façon à fonctionner en recyclage co-courant ou contre-courant.

La liqueur acide est une solution aqueuse d'un acide fort, qui est par exemple choisi parmi l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, l'acide nitrique, par exemple à une teneur en acide comprise entre 0,5 et 4% poids. De manière préférée, l'acide utilisé est l'acide sulfurique.

Etape e) de séparation solide/liquide sur le substrat lignocellulosique imprégné de liqueur acide

Conformément à l'étape e) du procédé de traitement selon l'invention, le substrat lignocellulosique imprégné de liqueur acide est soumis à une étape de séparation solide/liquide en vue d'obtenir un substrat lignocellulosique ayant un taux de matière sèche compris entre 15% et 70% poids et une liqueur acide usée. De préférence, le substrat lignocellulosique imprégné de liqueur acide est d'abord égoutté, afin d'extraire au moins une partie de la liqueur acide libre, avant d'être traité par séparation solide/liquide.

L'étape de séparation solide/liquide peut mettre en œuvre toute technique connue de l'homme du métier, par exemple la décantation, la centrifugation ou le pressage.

De préférence on réalise un pressage du substrat lignocellulosique concomitamment à son transfert à l'étape f) de prétraitement, lorsque cette dernière met en œuvre le procédé d'explosion à la vapeur qui est décrite ci-dessous. Ce mode de conduite de l'étape e) est par exemple assuré par une vis appelée « plug screw feeder », dont le fonctionnement a été déjà décrit plus haut. La formation d'un bouchon de substrat lignocellulosique pressé assure l'étanchéité à la pression du réacteur d'explosion à la vapeur, empêchant ainsi les fuites de vapeur. La vis de transfert est également munie d'une ou plusieurs conduites de soutirage de la liqueur usée (dite pressât) séparée lors du pressage. Le pressât peut être recyclé à l'étape d) d'imprégnation et/ou à l'étape b) de lavage.

La biomasse humide obtenue à l'issue de l'étape e) de séparation solide/liquide, qui peut être désigné par le terme "substrat lignocellulosique lavé et acidifié" présente un taux de matière sèche de préférence compris entre 25% et 70% poids, et plus préférentiellement compris entre 40 et 65% poids.

Etape f) de prétraitement du substrat lignocellulosique lavé et acidifié

Le substrat lignocellulosique lavé et acidifié subit une étape de prétraitement f).

La cellulose (et éventuellement les hémicelluloses) qui sont les cibles de l'hydrolyse enzymatique ne sont pas directement accessibles aux enzymes. C'est la raison pour laquelle un prétraitement de la biomasse est mis en œuvre avant l'étape d'hydrolyse enzymatique. Le prétraitement vise notamment à modifier les propriétés physiques et physicochimiques de la fraction cellulosique, telles que son degré de polymérisation et son état de cristallinité.

Divers types de prétraitement sont connus de l'homme du métier, ils associent un traitement chimique et un traitement thermique. On peut notamment citer la cuisson acide ou basique, le procédé dit « Organosolv », les traitements aux liquides ioniques et le procédé par explosion à la vapeur.

Le procédé de prétraitement préféré est l'explosion à la vapeur ("SteamEx" ou "Steam Explosion" selon la terminologie anglo-saxonne) réalisée en milieu acide. C'est un procédé dans lequel le substrat lignocellulosique est porté rapidement à haute température par injection de vapeur sous pression. L'arrêt du traitement s'effectue par décompression brutale. Les conditions opératoires du procédé d'explosion à la vapeur sont les suivantes :

- la vapeur est injectée directement dans le réacteur ;
- la température du réacteur est généralement comprise entre 150 et 220°C, de préférence comprise entre 170°C et 210°C,
- la pression est comprise entre 5 et 25 bars absolus, plus préférentiellement comprise entre 8 et 19 bars absolus.
- le temps de séjour avant la phase de détente varie de 10 secondes à 15 minutes, et de préférence entre 3 minutes et 12 minutes

L'explosion à la vapeur peut être réalisée en batch ou en continu, et l'étape de dépressurisation qui permet de déstructurer la biomasse peut se dérouler en une ou plusieurs étapes. De manière préférée, l'explosion à la vapeur est réalisée en continu.

A l'issue de l'étape de prétraitement par explosion à la vapeur, on obtient un substrat lignocellulosique prétraité à haut taux de matière sèche, généralement compris entre 20 et 70% poids, et plus souvent compris entre 35% et 65%, et une phase vapeur qui est ensuite condensée.

La mise en œuvre des étapes a) à f) selon la présente invention permet donc de produire un substrat prétraité réactif et une eau de lavage de la biomasse usée. Il a été par ailleurs mis en évidence que le procédé selon la présente invention produit un substrat prétraité appauvri en minéraux par rapport aux procédés de l'art antérieur, en particulier les procédés mettant en œuvre un recyclage de la liqueur d'imprégnation extraite à l'étape e) vers l'étape d) d'imprégnation. Ces minéraux sont extraits dans l'eau de lavage usée issu de l'étape c) du procédé selon la présente invention.

Dans le cadre de l'invention le substrat lignocellulosique prétraité obtenu à l'issue de l'étape f) du procédé de traitement selon l'invention est avantageusement utilisé comme charge dans un procédé dit de seconde génération de production de solvants et/ou d'alcools à partir de biomasse lignocellulosique qui poursuit le traitement de la biomasse selon les étapes successives précédemment décrites.

A la suite de l'explosion à la vapeur en conditions acides, le substrat lignocellulosique prétraité a généralement un pH inférieur à celui qui est compatible avec le milieu pour l'hydrolyse enzymatique. Ainsi le substrat lignocellulosique traité selon l'étape f) de

prétraitement est soumis à une étape de neutralisation pour amener son pH à une valeur comprise entre 4 et 6.

Pour l'étape de neutralisation, on emploie une solution aqueuse contenant un agent de neutralisation qui peut être choisi parmi toutes les bases faibles ou fortes connues de l'homme de l'art. Le terme base désigne toute espèce chimique qui, lorsqu'elle est ajoutée à de l'eau, donne une solution aqueuse de pH supérieur à 7. De manière préférée, l'agent de neutralisation est choisi parmi l'hydroxyde de potassium, l'hydroxyde de sodium, l'ammoniaque, la chaux. De manière encore plus préférée, l'agent de neutralisation est choisi parmi l'hydroxyde de potassium et l'ammoniaque, seuls ou en combinaison entre eux. De manière préférée, l'agent de neutralisation est utilisé en solution aqueuse, avec une concentration massique comprise entre 2% et 75%, et de manière encore plus préférée entre 15% et 50%.

La neutralisation s'effectue à une température comprise entre 15°C et 95°C, et de préférence entre 20°C et 70°C. En général, la température de l'étape de neutralisation n'est pas précisément contrôlée et est simplement régie par la chaleur dégagée par la réaction acido-basique de neutralisation.

L'étape de neutralisation peut-être réalisée en continu, en discontinu ou en discontinu alimenté dit « fed-batch » selon la terminologie anglo-saxonne.

Il est à noter qu'une étape de lavage peut être avantageusement pratiquée avant ou après l'étape de neutralisation, sur tout ou partie du substrat lignocellulosique prétraité.

Si un lavage est appliqué, un flux liquide est mis en contact avec le substrat lignocellulosique prétraité, puis le liquide est séparé du solide. L'étape de lavage peut être réalisée par percolation, par opérations de mélange et séparation liquide/solide successives, par lavage sur filtre à bande ou par toute autre technique connue de l'homme de l'art. Le liquide de lavage utilisé peut être de l'eau ou un flux du procédé. Le rapport massique entre le liquide de lavage ajouté et le liquide contenu dans le substrat à laver est généralement compris entre 0,5 et 4. L'étape de lavage génère un jus sucré de lavage contenant une partie des hémicelluloses solubilisées au cours du prétraitement. Ce jus de lavage peut par exemple être utilisé comme source de carbone pour la production des biocatalyseurs (enzymes et/ou microorganismes). L'étape de lavage s'effectue généralement à une température comprise entre 10°C et 95°C, et préférentiellement entre 30°C et 70°C. Dans un mode de réalisation préféré, le flux de lavage est au moins en partie composé de l'eau de lavage usée issue de l'étape c) de séparation solide/liquide sur la biomasse lavée.

Etape g) d'hydrolyse enzymatique

Le substrat lignocellulosique prétraité, éventuellement neutralisé et lavé, est envoyé à l'étape d'hydrolyse enzymatique g) du procédé.

Le substrat lignocellulosique prétraité qui est envoyé à l'étape d'hydrolyse enzymatique présente un taux de matière sèche généralement compris entre 15% et 70% poids.

L'objectif de l'hydrolyse enzymatique est d'hydrolyser (dépolymériser), au moyen de biocatalyseurs, les hémicelluloses et la cellulose en sucres fermentescibles, de préférence il s'agira du glucose.

L'étape d'hydrolyse enzymatique s'effectue dans des conditions douces, à une température de l'ordre de 40°C et 55°C, de préférence entre 45°C et 50°C et à pH de 4,0 à 5,5, et encore plus préférentiellement entre 4,8 et 5,2. Le taux de matière sèche du milieu d'hydrolyse enzymatique est compris entre 5 et 45% poids, de préférence compris entre 10 et 30% poids. Elle est réalisée au moyen d'enzymes produites par un microorganisme.

On peut utiliser des microorganismes naturels ou génétiquement modifiés, comme les champignons appartenant aux genres *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium* ou *Schizophyllum*, ou les bactéries anaérobies appartenant par exemple au genre *Clostridium*, produisant un cocktail d'enzymes contenant notamment des cellulases et des hémicellulases, adaptées à une hydrolyse poussée de la cellulose et des hémicelluloses.

L'hydrolyse enzymatique peut être réalisée en mode continu ou discontinu, ou en continu alimenté (« fed batch »), dans un ou plusieurs réacteurs. Le temps de séjour est compris entre 12 heures et 200 heures et de préférence entre 24 heures et 160 heures et encore plus préférentiellement entre 48 heures et 120 heures.

A l'issue de l'étape g), on récupère du bioréacteur un hydrolysats contenant des sucres fermentescibles qui est ensuite traité à l'étape h) de fermentation.

Il est à noter que l'hydrolysats obtenu peut éventuellement subir une ou plusieurs étapes de traitement avant l'étape de fermentation. Par exemple, il peut s'agir d'une remise au pH, d'une purification partielle en vue de limiter la teneur en composé inhibiteur pour le microorganisme fermentaire, d'une séparation au moins partielle des résidus solides contenus dans l'hydrolysats.

Étape h) de fermentation de l'hydrolysate

Selon l'étape h) du procédé de production de solvants et/ou d'alcools, l'hydrolysate éventuellement traité est envoyé à l'étape de fermentation h) permettant la conversion au moyen d'un ou plusieurs microorganismes de genres différents des sucres fermentescibles en solvant et/ou alcools d'intérêt. Les méthodes de fermentation sont connues de l'homme de l'art et sont notamment décrites dans le document US 8,456,633.

Par le terme "solvant", on entend désigner des composés organiques autres que les alcools, par exemple des composés organiques ayant une fonction cétone tel que l'acétone.

Le terme "alcool" désigne notamment l'éthanol, le propanol, l'isopropanol et le butanol.

Les microorganismes naturels ou génétiquement modifiés peuvent être choisis par exemple parmi *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces diastaticus*, *Kluyveromyces fragilis*, *Candida shehatae*, *Pichia stipitis*, *Pachysolen tannophilis* ou les bactéries *Zymomonas mobilis*, *Clostridium acetobutylicum*, *Escherichia coli*.

Dans le cadre de l'invention, l'étape de fermentation permet par exemple de produire de l'éthanol seul ou en mélange avec du butanol, du propanol, de l'isopropanol et/ou de l'acétone. Par exemple le microorganisme fermentaire peut être capable de produire un mélange dit "ABE (acétone-butanol-éthanol)" ou bien dit "IBE (isopropanol-butanol-éthanol)". De manière préférée, le microorganisme choisi est une levure naturelle ou génétiquement modifiée du genre *Saccharomyces* capable de produire de l'éthanol.

A l'issue de l'étape h) on récupère un moût de fermentation dilué en produits d'intérêt.

Selon un mode de réalisation du procédé, les étapes g) et h) sont réalisées en même temps, dans au moins un même bioréacteur, de sorte que l'hydrolyse enzymatique et la fermentation sont menées simultanément selon un procédé désigné par le terme "Saccharification et Fermentation Simultanées (SFS)" ou "Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)" selon la terminologie anglo-saxonne, ou encore "Simultaneous Saccharification and Co-Fermentation" (SSCF) lorsque le microorganisme mis en œuvre est capable d'assimiler conjointement des sucres en C5 et des sucres en C6 (par exemple, du glucose et du xylose). Lorsque l'étape d'hydrolyse est confondue avec l'étape de fermentation, les conditions opératoires, notamment de température, peuvent être adaptées pour s'adapter aux tolérances du microorganisme de fermentation. Par exemple, la température peut être abaissée entre 28°C et 45°C, et préférentiellement entre 30°C et 35°C,

lorsque la fermentation est conduite avec une levure du genre *Saccharomyces*. Le pH est ajusté de préférence entre 5 et 5,5 afin de favoriser la performance des levures.

Dans le cadre de l'invention, l'eau de lavage usée récupérée à l'étape de lavage b) après séparation de la biomasse est avantageusement utilisée au moins en partie dans l'étape de fermentation h).

Pour cela, l'eau de lavage usée issue de l'étape c) peut être introduite directement dans l'étape h) de fermentation, ou être introduite dans l'étape g) d'hydrolyse enzymatique ou même dans l'étape de neutralisation préalable à l'hydrolyse enzymatique quand elle est prévue. Ainsi, l'eau de lavage usée est ensuite transférée en partie avec le flux issu de l'hydrolyse qui est envoyé en fermentation.

L'utilisation d'une partie de l'eau de lavage usée en fermentation permet de ramener dans cette étape une partie des minéraux présents dans la biomasse native qui ont été retirés au cours du lavage de l'étape b). Ces minéraux ont un impact bénéfique sur la croissance du microorganisme utilisé dans l'étape de fermentation. En particulier, ces minéraux ont un impact bénéfique sur la croissance de la levure *Saccharomyces*.

L'unité de production mettant en œuvre le procédé selon l'invention peut comprendre, outre les installations déjà décrites, des unités de production in situ d'enzymes et/ou de levures. Pour ce type d'unité, il est possible d'envoyer au moins une partie de l'eau de lavage usée dans ces unités de production d'enzymes et/ou de levures afin de valoriser les minéraux qui y sont contenus. Avant un tel recyclage, l'eau de lavage usée peut être détoxifiée, afin d'en éliminer les composés inhibiteurs vis-à-vis des microorganismes, et/ou réajustée en pH.

Les étapes de production de biocatalyseurs nécessitent l'apport de substrats permettant d'amener les éléments constituant les microorganismes. Ces éléments sont principalement le carbone, l'oxygène, l'hydrogène, puis, dans un second temps l'azote, le phosphore et le soufre. Enfin, les minéraux sont aussi présents en faibles quantités dans les microorganismes. Ainsi, lorsque les cellules des microorganismes se multiplient, elles ponctionnent tous les éléments entrant dans leur constitution dans leur milieu. Les étapes de production de biocatalyseurs sont généralement conduites sur des substrats contenant des molécules carbonées assimilables, telles que des sucres, et dans des réacteurs agités et aérés, l'air permettant d'apporter l'oxygène. De plus, des complémentations doivent être mises en place pour assurer les apports des autres éléments tels que l'azote, le phosphore, le soufre et les minéraux. Notamment, les minéraux peuvent être des éléments coûteux à

introduire, même si les quantités mises en jeu sont faibles. Dans une configuration connue de l'homme de l'art, les microorganismes nécessaires au procédé de bioconversion sont produits in situ à partir de jus sucré issu du procédé. Ces jus sucrés sont extraits soit par un lavage du substrat prétraité issu de l'étape f) de prétraitement, soit par une séparation solide/liquide, couplée éventuellement à un lavage, réalisée après l'étape g) d'hydrolyse enzymatique.

Etape i) de séparation des solvants et/ou des alcools du moût de fermentation.

Le procédé selon l'invention peut enfin comprendre une étape i) de séparation du ou des produits d'intérêt du moût de fermentation, éventuellement précédée d'une étape de séparation solide/liquide afin d'éliminer au moins une fraction de la matière solide contenue dans le moût de fermentation.

De préférence l'étape de séparation du ou des produits d'intérêt, par exemple l'éthanol, met en œuvre une ou plusieurs distillations, selon une technologie bien connue de l'homme du métier.

Les autres caractéristiques et avantages de l'invention vont apparaître à la lecture de la description d'exemples de réalisations particuliers de l'invention, donnés à titre uniquement illustratif, et en référence aux figures 1 à 7 précédemment annoncées.

Sur la figure 1, les particules de biomasse lignocellulosique broyées entrent par la conduite 1 dans la zone de lavage 2 pour réaliser l'étape de lavage b). Le lavage selon l'invention est pratiqué au moyen d'une eau de lavage (eau à pH entre 4 et 8,5) apportée par la conduite 3. Un premier filtrat qui correspond à une eau de lavage usée libre peut être éventuellement séparé par exemple par égouttage et récupéré par la conduite 4.

La biomasse lignocellulosique lavée est ensuite soumise à l'étape c) de séparation solide/liquide (zone de séparation 5), qui met en œuvre de préférence un pressage de la pulpe humide. De préférence, cette séparation solide/liquide est réalisée de façon concomitante au transfert de la biomasse lignocellulosique lavée vers la zone d'imprégnation 6 afin de réaliser l'étape d) du procédé. La séparation solide/liquide produit une eau de lavage usée qui est extraite par la conduite 7 et un substrat lignocellulosique lavé dont la teneur en matière sèche est comprise entre 15% et 70% poids. Dans le mode de réalisation de la figure 1, les eaux de lavage usées des lignes 4 et 7 sont éventuellement mélangées pour être recyclées à l'étape de lavage par la ligne 25. De préférence, une partie seulement de l'eau de lavage usée issue de la séparation c) est éventuellement recyclée à l'étape de lavage b), et tout ou partie de l'eau de lavage usée est utilisée dans des étapes aval au prétraitement décrites à l'aide des figures suivantes.

Le substrat lignocellulosique lavé est ensuite envoyé à la zone d'imprégnation 6 dans laquelle est réalisée l'étape d) d'imprégnation d'une liqueur acide, qui est apportée par la conduite 8. L'imprégnation est réalisée dans un réacteur d'imprégnation à une température comprise entre 10 et 90°C et de préférence à pression atmosphérique. Le temps de séjour du substrat lignocellulosique dans le réacteur d'imprégnation est habituellement de 10 secondes à 180 minutes, de préférence entre 30 secondes et 60 minutes et encore plus préférentiellement entre 30 secondes et 15 minutes. De préférence, l'étape d'imprégnation est effectuée en une seule étape avec un taux de matière sèche compris entre 1 et 30%.

Le substrat lignocellulosique lavé et imprégné, soutiré de la zone d'imprégnation 6, est transféré dans une zone 10 de séparation solide/liquide afin de séparer une liqueur acide usée par la ligne 9 et un substrat lignocellulosique lavé et acidifié qui est envoyé vers l'étape de prétraitement. La séparation solide/liquide met en œuvre de préférence un pressage qui est réalisé de manière concomitante au transport du substrat lignocellulosique lavé et imprégné vers l'unité de prétraitement 11, par exemple au moyen d'une vis de type « plug screw feeder ». La liqueur acide usée (ou pressât issue du pressage) est récupérée dans la conduite 9 et est éventuellement recyclée vers la zone d'imprégnation 6. L'imprégnation de la liqueur acide permet d'obtenir un produit présentant un taux de matière sèche généralement compris entre 15 et 70% poids et dont le pH est compris entre 0,1 et 3.

L'unité de prétraitement 11 représenté à la figure 1 met en œuvre un procédé par explosion à la vapeur. Ainsi la vapeur est apportée par la conduite 12 tandis que la vapeur détendue est soutirée par la ligne 13 et est généralement condensée afin de fournir un condensat acide.

De préférence et comme montré sur la figure 1, le substrat lignocellulosique prétraité est neutralisé dans la zone de neutralisation 14 qui est alimentée par la conduite 15 en solution neutralisante telle qu'une solution basique.

Le substrat neutralisé est ensuite soumis à une hydrolyse enzymatique réalisée dans la zone 16 en présence d'un cocktail enzymatique apporté par la ligne 16 bis adaptée pour hydrolyser notamment la cellulose en sucres fermentescibles (essentiellement en glucose).

Le produit de l'hydrolyse enzymatique, appelé hydrolysats est traité dans une étape de fermentation dans la zone de fermentation 17 afin de convertir, en présence de microorganismes fermentaires apportés par le ligne 17 bis, les sucres en produits d'intérêt comme un solvant et/ou un alcool. L'étape de fermentation conduite en présence de

microorganismes, peut être une fermentation éthylique produisant principalement de l'éthanol, une fermentation de type ABE ou IBE.

Il est à noter que les étapes d'hydrolyse enzymatique et de fermentation peuvent être menées de manière concomitante selon un procédé désigné par le terme "Saccharification et Fermentation Simultanées (SFS)" connu de l'homme du métier.

Le moût de fermentation qui est récupéré en sortie du fermenteur est traité en vue de séparer les produits d'intérêt. Généralement, la récupération des produits de fermentation se fait par distillation au moyen d'une colonne 18, de façon connue de l'homme du métier. De la colonne 18, on soutire un flux 19 ayant concentré les produits d'intérêt et une vinasse 20.

La figure 2 représente un schéma de procédé de traitement de la biomasse lignocellulosique dans lequel sont représentés des flux qui peuvent être recyclés à l'étape de lavage b) et de séparation c) de la biomasse, outre le flux externe d'eau de lavage qui est amené par la ligne 3.

Comme indiqué sur la figure 2, on peut recycler une partie 21 de la liqueur acide usée 9 issue de la séparation solide/liquide menée dans la zone 10 avant le prétraitement 11, l'autre partie 22 étant purgée ou renvoyée à l'étape d'imprégnation effectuée dans la zone 6, L'étape de lavage peut aussi mettre en œuvre une partie 23 des condensats acides 13 issus du prétraitement 11 tandis que l'autre partie 24 des condensats est purgée. Lorsqu'un tel recyclage du condensat est envisagé il est possible de le purifier, notamment afin de limiter les teneurs en composés furfural et en acide acétique avant de le recycler à l'étape de lavage.

Comme indiqué auparavant, il est possible de recycler par la ligne 25 au moins une partie de l'eau de lavage usée 7 qui est issue de l'étape de séparation de la zone 5.

Les différents modes de recyclage décrits peuvent être bien entendu combinés entre eux. Quand on prévoit de recycler des effluents acides pour faire partie de la solution aqueuse de lavage de l'étape b), on ajuste leur apport pour que la solution aqueuse reste au pH voulu (d'au moins 4, et notamment d'au moins 6).

Les figures 3 et 4, semblables à la figure 1, montrent un schéma de procédé de production de solvants et/ou d'alcools à partir de biomasse lignocellulosique comprenant une étape de lavage de la biomasse b) dans laquelle l'eau de lavage usée n'est pas que recyclée à l'étape de lavage, mais avantageusement également, en tout ou partie, utilisée dans des étapes aval.

En effet, cette eau de lavage usée très riche en minéraux (cendres) peut être avantageusement employée comme source de nutriment pour les microorganismes et les levures.

Le pH de l'eau de lavage est compris entre 4 et 8,5. Ainsi, selon le pH, il convient de procéder à une neutralisation, le cas échéant, si cette eau est destinée à la production d'enzymes ou de levures ou pour compléter les milieux d'hydrolyse enzymatique ou de fermentation.

La figure 3 montre également les différentes utilisations possibles de l'eau de lavage usée soutirée par les lignes 4 et/ou 7. La totalité ou une partie de l'eau de lavage usée 7 (et/ou 4) peut être dirigée vers une étape optionnelle de traitement 30, par exemple une étape d'ajustement du pH et/ou de traitement de détoxification. L'eau de lavage usée ou l'effluent de l'étape de traitement 30 peut être envoyé à l'étape de neutralisation du substrat lignocellulosique prétraité 14 par la ligne 31, à l'étape d'hydrolyse enzymatique de la zone 16 via la ligne 32 et/ou vers l'étape de fermentation 17 par la ligne 33.

La figure 4 illustre les possibilités d'utilisation de l'eau de lavage usée issue de l'étape c) de séparation dans les étapes de production d'enzymes et/ou de levures quand elles sont intégrées au procédé de traitement de la biomasse. La figure 4 montre également un recyclage possible de l'eau de lavage usée dans une étape optionnelle de lavage (partielle ou totale) du substrat lignocellulosique prétraité, cette étape de lavage pouvant précéder ou suivre l'étape de neutralisation du substrat lignocellulosique prétraité.

Il est à noter que le procédé de la figure 4 combine les deux types de recyclage (production d'enzymes et/ou de levures et étape optionnelle de lavage). Cependant dans le cadre de l'invention, il est tout à fait possible de ne procéder qu'à l'un des deux types de recyclage.

En référence à la figure 4, le substrat lignocellulosique prétraité est envoyé à l'étape de lavage (étape additionnelle par rapport à la figure 3) opérée dans la zone 40, avant l'étape de neutralisation de la zone 14. L'eau de lavage est apportée par la ligne 41. Un jus contenant des sucres solubles et autres composants est récupéré par la ligne 42.

Ce jus riche en sucres peut être utilisé pour la production d'enzymes opérée dans la zone 44 et/ou de levures opérée dans la zone 45. Les enzymes et les levures produites sont ajoutées respectivement via les conduites 46 et 47 à l'étape d'hydrolyse enzymatique dans la zone 16 et à l'étape de fermentation dans la zone 17.

L'eau de lavage usée 7 (c'est également le cas, éventuellement de l'eau de lavage 4) peut être traitée dans une étape optionnelle de traitement 30 (détoxification et/ou neutralisation) et être dirigée tout ou en partie par les lignes 43 et 48 vers l'étape de lavage 40 du substrat lignocellulosique prétraité, en complément ou en remplacement de l'eau de lavage de la conduite 41. L'eau usée de lavage usée 7 (et éventuellement aussi l'eau de lavage 4) peut être également envoyée à l'unité production d'enzyme 44 via la ligne 49 et/ou à l'unité de production de levures 45 par la ligne 50. Les eaux de lavage 4 et 7 peuvent être mélangées avant ou après l'éventuelle étape de traitement 30. La portion de l'eau de lavage usée 7 éventuellement non recyclée peut être purgée par la conduite 26.

L'eau de lavage 7 (et 4) issue du lavage et de la séparation b) + c) de l'invention peut donc être réintroduite à plusieurs stades du procédé après le prétraitement et/ou lors de la fabrication des enzymes et ou des levures, et éventuellement aussi partiellement recyclée pour l'étape de lavage b). Ce choix dépend du type d'installation (production intégrée ou non des enzymes et des levures), du type de biomasse, etc... et peut donc fluctuer d'un cycle de production à un autre ou dans un même cycle.

Selon un mode de réalisation, les étapes de neutralisation et d'hydrolyse enzymatique sont réalisées dans une même unité.

En résumé la mise en œuvre de l'étape de lavage de la biomasse lignocellulosique présente l'avantage de réduire la quantité d'acide nécessaire à l'imprégnation. Cette réduction permet par conséquent de limiter les ajouts de composés basiques pour l'étape de neutralisation du substrat lignocellulosique prétraité, ce qui réduit parallèlement la quantité de sels formés. Or ces sels (notamment sulfates) limitent considérablement le recyclage des flux notamment en présence de microorganismes.

Le fait de générer une eau de lavage dont le pH est tamponné, et qui est par la suite recyclée permet de réaliser des économies en terme de dépenses d'exploitation, tout en évitant les chocs de pH dommageables pour le fonctionnement des microorganismes et des enzymes, ainsi que pour la survie des levures. La réutilisation de l'eau de lavage usée est très souple de mise en œuvre suivant les diverses configurations d'installation, et apporte un véritable gain à des étapes bien spécifiques du procédé aval au prétraitement.

Exemples

Exemple 1 : Dosage des acidités résiduelles dans des liqueurs préparées selon l'art antérieur et selon l'invention.

Préparation de la liqueur fraîche :

600,2 g de solution acide ont été préparé en mélangeant 4,6 g de solution d' H_2SO_4 concentrée à 72% poids d' H_2SO_4 avec de l'eau. La liqueur acide ainsi obtenue est dénommée "Liqueur L1".

Obtention d'une liqueur usée d'imprégnation (comparatif) :

247,3 g de la liqueur précédente ont été chauffés à 60°C puis mis en contact pendant une durée d'environ 180 minutes avec 30 g de paille broyée dont la teneur en matière sèche (MS) de 92,4%. Cette imprégnation a donc été conduite à une teneur en matière sèche (MS) de 10% poids avec un apport d' H_2SO_4 de 4,9 g $H_2SO_4/100$ g MS. A l'issue de la mise en contact on constate une perte de poids au cours de l'imprégnation de 20,6 g. La biomasse imprégnée d'acide est ensuite pressée générant 90 g d'un gâteau humide et 156,5 g d'une liqueur usée d'imprégnation dénommée « Liqueur L2 ».

Liqueurs usées d'imprégnation (selon l'invention) :

La même paille broyée (30 g) est mise en contact avec de l'eau à 60°C pendant 3 minutes simulant un lavage de la biomasse. Le taux de matière sèche (MS) est de 10% poids dans ce mélange. Le milieu est ensuite séparé par pressage de manière à récupérer une paille lavée et une eau de lavage usée (filtrat). On note des pertes expérimentales : moins de 0,02% de pertes lors de la mise en contact avec l'eau et environ 5% de pertes de masse lors de la séparation, liées au montage expérimental (2,2% sur base MS).

Le tableau 1 ci-dessous reprend les données expérimentales de préparation de la paille lavée à l'eau :

Teneur en matière sèche paille brute (%pds)	92,4
Masse de paille brute lavée (g)	30,0
Masse d'eau à 60°C (g)	250,5
Teneur en matière sèche du mélange avant lavage (% pds)	9,9
pH de l'eau à T°C labo	7,40 à 23°C
pH de l'eau à 60°C	7,63 à 58°C
Temps de lavage	3 min
Masse totale avant lavage (g)	280,5
Masse totale avant pressage (g)	280,2
Masse de solide après pressage (g)	74,8
Teneur en matière sèche du solide pressé (% pds)	34,3
Masse d'eau après pressage (g)	191,2
Teneur en matière sèche de l'eau après pressage (%pds)	0,77
pH de l'eau après pressage (-)	6,96 à 34°C

50,1 g de paille lavée comme décrit précédemment, ayant une teneur en MS de 34,3%, sont mis en contact pendant 180 minutes avec 121,7 g d'une liqueur acide contenant 0,70% poids de H_2SO_4 . Cette imprégnation a donc été conduite à 10% poids de matière sèche (MS), et avec un apport d' H_2SO_4 de 4,96 g H_2SO_4 /100 g MS. A l'issue de la mise en contact, on constate une perte de poids au cours de l'imprégnation de 24,8 g. La biomasse lavée et imprégnée d'acide est ensuite pressée de façon à obtenir 57,9 g d'un gâteau humide et 73,1 g d'une liqueur acide usée d'imprégnation qui est dénommée "liqueur L3".

Le dosage de l'acidité de ces 3 liqueurs a été réalisé par suivi de l'évolution du pH en fonction du volume de solution basique versé. La solution basique utilisée est une solution de NaOH à 0,1 N. La figure 5 présente les courbes de titrage obtenues pour chaque liqueur, avec, en abscisse, la quantité de solution de NaOH en ml à 0,1N par ml d'échantillon, et en ordonnée le pH.

On constate que l'étape d'imprégnation conduit à une perte d'acidité de la liqueur L1. Lors de l'imprégnation après le lavage selon l'invention, on voit que la liqueur usée L3 récupérée a une acidité plus élevée que la liqueur usée L2 pour une quantité spécifique de catalyseur acide introduite similaire. Ainsi, la « consommation » d'acidité par la biomasse est réduite, grâce à la mise en place du lavage préalable à l'imprégnation selon la présente invention.

Exemple 2 : Réajustement du pH en vue du recyclage des liqueurs préparées selon l'art antérieur et selon l'invention

La paille broyée de l'exemple 1 est mise en contact avec de l'eau à 60°C pendant 60 min. La teneur en MS est de 10% poids dans ce mélange. Le milieu est ensuite séparé par une séparation solide/liquide permettant de récupérer une paille lavée et une eau de lavage (filtrat). Les pertes expérimentales ont été près de 12% de pertes massiques lors du trempage (surement par évaporation) et environ 3% de pertes de masse lors de la séparation, liées au montage expérimental. Le bilan MS de la préparation est quant à lui de 96,6%.

Le tableau 2 ci-dessous reprend les données expérimentales de préparation de la paille lavée à l'eau :

Teneur en matière sèche paille brute (% pds)	92,4
Masse de paille brute lavée (g)	30,0
Masse d'eau à 60°C (g)	251,0
Teneur en MS du mélange avant lavage (%pds)	9,9
pH de l'eau à T°C labo	7,38 à 23°C
pH de l'eau à 60°C	7,35 à 57°C
Temps de lavage	60 min
Masse de solide après pressage (g)	85,2
Teneur en ms du solide pressé (%pds)	29,4
Masse d'eau après pressage (g)	156,6
Teneur en ms de l'eau après pressage (%pds)	1,1
pH de l'eau après pressage (-)	7,16 à 20°C

50,1 g de paille lavée comme décrit précédemment dont la teneur en MS est de 29,4%, sont mis en contact pendant 180 minutes avec 97,1g d'une liqueur acide contenant 0,75% poids de H₂SO₄. Cette imprégnation a donc été mise en œuvre à 10% poids de MS et avec une quantité d'H₂SO₄ de 4,93 g H₂SO₄/100 g MS. Ce mélange est ensuite pressé permettant

d'obtenir 67,2 g d'un gâteau humide et 48,6 g d'une liqueur acide usée d'imprégnation "liqueur L4".

Le pH des liqueurs usées L2 et L4 a été réajusté jusqu'à une valeur cible de 1,2 en ajoutant une solution d' H_2SO_4 à 0,05 M. L'évolution du pH en fonction du volume ajouté est présenté sur la Figure 6, avec, en abscisse le nombre de ml de solution de H_2SO_4 à 0,05M par ml d'échantillon.

La liqueur usée préparée selon l'invention (Liqueur L4) nécessite une quantité d'acide plus faible que la liqueur usée obtenue après imprégnation de la biomasse non lavée (Liqueur L2) pour abaisser son pH en vue notamment de son recyclage.

Ainsi, pour ajuster le pH des liqueurs usées à un pH de 1,2, il faut ajouter 3,8 mg d'acide sulfurique/mL d'échantillon pour la liqueur usée L4 et 5,3 g/mL échantillon pour la liqueur usée L2, soit un gain de 28% sur la consommation en acide sulfurique.

Exemple 3 : Analyses de biomasses avant et après l'enchaînement des étapes d'imprégnation et de prétraitement (art antérieur)

Une paille de blé récoltée en 2017 a été broyée puis analysée après broyage. Les teneurs en minéraux Cuivre, Zinc, Magnésium et Manganèse de ce lot de paille A sont reportées dans le tableau 3 suivant, exprimées en mg de l'élément / kg sec de paille :

Echantillon analysé		Paille native A
Teneur en matière sèche	%poids / brut	92%
Cuivre	mg Cu / kg sec	2
Zinc	mg Zn / kg sec	4
Magnésium	mg Mg / kg sec	778
Manganèse	mg Mn / kg sec	34

Cette paille broyée a ensuite été prétraitée selon un procédé de l'art antérieur: explosion à la vapeur précédée d'une imprégnation acide, avec recyclage total de la liqueur d'imprégnation usagée. Ainsi, la paille broyée est acheminée dans un outil d'imprégnation par le moyen d'une vis de type plug-screw. Le débit de paille est de 2820 kg /heure, soit 2600 kg sec/heure. Elle est détendue dans un lit de liqueur acide et convoyée verticalement dans l'outil d'imprégnation, d'où elle ressort gorgée de liqueur d'imprégnation. Une cuve de liqueur acide sert à la préparation de la liqueur qui alimente en continu l'outil d'imprégnation afin de renouveler l'inventaire et de maintenir le niveau constant. Cette paille imprégnée est ensuite

convoyée vers un outil d'explosion à la vapeur. Elle est introduite dans cet outil au moyen d'une vis de type plug-screw. Lors de la compression de la paille imprégnée dans la vis, de la liqueur usagée est expulsée (dite pressât). Cette liqueur est totalement recyclée vers la cuve de préparation de liqueur acide. Cette cuve de préparation de liqueur acide est aussi alimentée en eau et en acide sulfurique H_2SO_4 afin de compenser la perte de la fraction de liqueur qui est exportée avec la paille dans l'outil d'explosion à la vapeur.

Après un temps de cuisson court dans le réacteur, la paille imprégnée et cuite est détendue en sortie de réacteur. Le mélange constitué de solide, liquide et vapeur est séparé dans un cyclone, permettant de séparer la vapeur du mélange solide/liquide. Ce mélange solide/liquide constitue la paille prétraitée. Les conditions appliquées pour l'imprégnation et l'explosion à la vapeur sont :

- Débit de solution acide concentré : 116 kg / h en moyenne
- Débit d'eau : 3 900 kg / h
- Temps d'imprégnation : 1 min 30
- Temps de séjour de cuisson : 5 min
- Alimentation vapeur : 100% en tête
- Recyclage pressât : 100%

Le débit moyen de solution acide est reporté ci-dessus, les fluctuations sont d'environ 15% à 20% autour de ce débit moyen (minimum 88 kg / h, maximum 130 kg / h).

Un échantillon de paille prétraitée a été analysé. Les teneurs en minéraux Cuivre, Zinc, Magnésium et Manganèse de la paille prétraitée sont reportées dans le tableau 4 suivant, exprimées en mg de l'élément / kg sec de paille prétraitée.

Par rapport à la Paille native, les teneurs en Cuivre, Zinc, Magnésium sont considérées comme stables, et la teneur en Manganèse a été réduite de 30%.

Echantillon analysé		Paille A prétraitée
Teneur en matière sèche	%poids / brut	38%
Cuivre	mg Cu / kg sec	3
Zinc	mg Zn / kg sec	6
Magnésium	mg Mg / kg sec	706
Manganèse	mg Mn / kg sec	24

Exemple 4 : Analyse de biomasses avant et après l'enchaînement des étapes de lavage, d'imprégnation et de prétraitement (conforme à l'invention)

Une paille de blé récoltée en 2013 a été broyée puis analysée après broyage. Les teneurs en minéraux Cuivre, Zinc, Magnésium et Manganèse de ce lot de paille B sont reportées dans le tableau 5 suivant, exprimées en mg de l'élément / kg sec de paille :

Echantillon analysé		Paille native B
Teneur en matière sèche	%poids / brut	89%
Cuivre	mg Cu / kg sec	2
Zinc	mg Zn / kg sec	4
Magnésium	mg Mg / kg sec	760
Manganèse	mg Mn / kg sec	35

Cette paille broyée a ensuite été prétraitée selon un procédé selon l'invention: lavage de la biomasse avec une solution aqueuse, puis imprégnation acide suivie d'une explosion à la vapeur, avec recyclage total de la liqueur d'imprégnation usagée.

Ainsi, la paille broyée est acheminée vers une première étape de lavage. Le débit de paille est de 2 920 kg / heure, soit 2 600 kg sec/ heure. Dans cette étape, la paille broyée est mise en contact avec une solution aqueuse de pH 5 pendant une durée de 8 minutes dans un outil rotatif permettant le lavage et l'égouttage simultané de la Paille. Ici, l'étape b) de lavage et l'étape c) de séparation liquide/solide sont opérées dans un même outillage. Un premier flux de lavage est extrait de l'outil rotatif et la paille égouttée est convoyée à l'étape suivante d'imprégnation. Elle est introduite dans l'outil d'imprégnation au moyen d'une vis de type « plug-screw ». En raison de la forte humidité de la paille égouttée, la compression dans cette vis génère un second flux de lavage : on a donc ici une séparation selon l'étape c) en deux opérations. Après cette séparation solide/liquide, la paille a une teneur en matière sèche de 55%. Elle est détendue dans un lit de liqueur acide et convoyée verticalement dans l'outil d'imprégnation d'où elle ressort gorgée de liqueur d'imprégnation. Une cuve de liqueur acide sert à la préparation de la liqueur qui alimente en continu l'outil d'imprégnation afin de renouveler l'inventaire et de maintenir le niveau constant. Cette paille imprégnée est ensuite convoyée vers un outil d'explosion à la vapeur. Elle est introduite dans cet outil au moyen d'une vis de type « plug-screw ». Lors de la compression de la paille imprégnée dans la vis, de la liqueur usagée est expulsée (dite pressât). Cette liqueur est recyclée vers la cuve de préparation de liqueur acide pour 95% de son débit massique, et les 5% restant alimentent la cuve de préparation de solution aqueuse de lavage. La cuve de préparation de liqueur acide est aussi alimentée en eau et en acide sulfurique H_2SO_4 , afin de compenser la perte de la fraction de liqueur qui est exportée avec la Paille dans l'outil d'explosion à la vapeur. La cuve de préparation de la solution aqueuse de lavage est alimentée en liqueur usagée et en eau.

Après un temps de cuisson court dans le réacteur, la paille imprégnée et cuite est détendue en sortie de réacteur. Le mélange constitué de solide, liquide et vapeur est séparé dans un cyclone, permettant de séparer la vapeur du mélange solide/liquide. Ce mélange solide/liquide constitue la paille prétraitée.

Les conditions appliquées pour le lavage sont choisies pour se rapprocher des conditions de l'imprégnation statique diluée (soit 8%MS sur la paille) :

- Débit de solution aqueuse de lavage : 29 500 kg/h en moyenne
- Débit d'eau : 29 100 kg / h
- Temps de contact: 8 min

Les conditions appliquées pour l'imprégnation et l'explosion à la vapeur sont :

- Débit de solution acide concentré : 65 kg/h en moyenne
- Débit d'eau : 1 590 kg / h
- Temps d'imprégnation : 1 min 30
- Temps de séjour de cuisson : 5 min
- Alimentation vapeur : 100% en tête
- Recyclage pressât : 95% vers préparation liqueur acide et 5% vers solution aqueuse

Le débit moyen de solution acide est reporté, les fluctuations sont de 10% autour de ce débit moyen (minimum 58 kg / h, maximum 72 kg / h).

Un échantillon de paille prétraitée a été analysé. Les teneurs en minéraux Cuivre, Zinc, Magnésium et Manganèse de la paille lavée puis prétraitée selon l'invention sont reportées dans le tableau 6 suivant, exprimées en mg de l'élément / kg sec de paille prétraitée :

Echantillon analysé		Paille B lavée puis prétraitée
Teneur en matière sèche	%poids / brut	38%
Cuivre	mg Cu / kg sec	1
Zinc	mg Zn / kg sec	< 1,5
Magnésium	mg Mg / kg sec	43
Manganèse	mg Mn / kg sec	19

Par rapport à la paille native, les teneurs en Cuivre, Zinc, Magnésium et Manganèse ont été fortement réduites en raison de la fuite de ces minéraux dans l'eau usée de lavage. En particulier, plus de 90% du magnésium initialement présent dans la paille native n'est plus présent dans la paille lavée et prétraitée selon un procédé conforme à l'invention.

La mise en œuvre d'un lavage préalable à l'imprégnation conformément à l'invention permet donc une diminution de la consommation d'acide de 44% sur le débit moyen consommé et une amélioration de la stabilité de cette consommation. Cet exemple met donc en évidence à la fois l'amélioration de la consommation d'acide, et la fuite des minéraux dans les eaux usées de lavage.

Exemple 5 : Mise en évidence de l'effet bénéfique des minéraux sur la croissance de microorganisme de type levures

Un échantillon de paille lavée et prétraitée produit selon l'exemple 4 a été utilisé pour des travaux en laboratoire. Tout d'abord, cet échantillon a subi une extraction solide/liquide afin d'en extraire un jus sucré contenant 65 g / kg de sucres glucose et xylose.

Ce jus a ensuite servi de substrat pour un essai de laboratoire de propagation de levure. Les essais se déroulent dans une fiole à baffle de volume total 250mL, équipée de bouchons en cellulose laissant passer l'air et placée sur table agitée. La température et le pH sont réglés à la même consigne pour tous les essais. Le jus extrait est supplémenté :

- Pour l'essai 1 de 2.5 g / kg de Phosphate de diammonium et 2 g / kg d'urée
- Pour l'essai 2 de 2.5 g / kg de Phosphate de diammonium, 2 g / kg d'urée et 2 g / kg du cocktail de minéraux

La composition du cocktail de minéraux est donnée dans le tableau 7 ci-dessous :

Composé	Concentration g / kg
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
CuSO ₄ .2H ₂ O	0,15
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,30
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,0

Après supplémentation et mise au pH, les jus sontensemencés avec une levure de type *Saccharomyces cerevisiae* génétiquement modifiée pour assimiler le xylose (sucre en C5), en plus de l'assimilation naturelle du glucose. L'ensemencement se fait à la même teneur sur les essais, et le suivi de la croissance cellulaire est réalisé par mesure de l'absorbance (DO à 600 nm) au cours de l'essai, et par mesure des insolubles sur un prélèvement pour le temps final de l'essai. La figure 7 présente le suivi de l'absorbance A en fonction du temps exprimé en heure, pour l'essai 1, qui est représenté par des carrés, et pour l'essai 2, qui est représenté par des triangles.

Les teneurs finales en levures sont de 13,3 g / kg pour l'essai 1, contre 17 g / kg pour l'essai 2. Il est mis ainsi en évidence un impact bénéfique des minéraux sur la croissance de cette levure de type *Saccharomyces*.

REVENDICATIONS

1. Procédé de traitement de biomasse lignocellulosique comprenant les étapes suivantes successives :

a) on conditionne la biomasse lignocellulosique par au moins une étape de broyage, notamment de façon à obtenir des particules de biomasse broyée ayant une taille d'au plus 300 µm;

b) on lave lesdites particules avec une solution aqueuse de pH compris entre 4 et 8,5, à une température comprise entre 10 et 95°C, à pression atmosphérique, et pendant une durée comprise entre 1 et 300 minutes;

c) on sépare la solution aqueuse des particules de biomasse lavées pour obtenir, d'une part, un substrat lignocellulosique ayant un taux de matière sèche compris entre 15 et 70% poids, et, d'autre part, une solution aqueuse de lavage usée;

d) on imprègne ledit substrat lignocellulosique avec une liqueur acide, de façon à obtenir un substrat lignocellulosique imprégné ayant un pH comprise entre 0,1 et 3;

e) on réalise une séparation solide/liquide du substrat lignocellulosique imprégné, pour obtenir, d'une part, un substrat lignocellulosique ayant un taux de matière sèche compris entre 15% poids et 70% poids, et, d'autre part, un effluent liquide;

f) on prétraite ledit substrat lignocellulosique imprégné issu de l'étape e) par cuisson, notamment pendant une durée comprise entre 1 et 120 minutes, de façon à obtenir un substrat lignocellulosique prétraité,

g) on effectue une hydrolyse enzymatique du substrat lignocellulosique prétraité par des enzymes produits à partir de microorganismes de type champignons, de manière à obtenir un hydrolysât contenant des sucres;

h) on effectue une fermentation, par des microorganismes de type bactéries ou levures, de l'hydrolysât issu de l'étape g) pour obtenir un moût de fermentation contenant au moins une molécule biosourcée telle qu'un solvant et/ou un alcool;

- optionnellement on intègre audit procédé une étape de production d'enzymes et/ou une étape de production/propagation des micro-organismes nécessaires aux étapes g) et/ou h)

- et on introduit au moins une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans une étape dudit procédé de traitement de la biomasse qui est postérieure à l'étape f) de prétraitement, et/ou dans une étape de production d'enzymes et/ou dans une étape de production/propagation des micro-organismes nécessaires aux étapes g) ou h) quand au moins une de ces étapes de production d'enzymes et/ou de production/propagation de microorganismes est intégrée audit procédé de traitement de biomasse.

2. Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'on introduit au moins une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans l'étape d'hydrolyse enzymatique g) ou dans l'étape de fermentation h).

3. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend une étape de neutralisation du substrat lignocellulosique prétraité à l'étape f), avant ou pendant l'étape g) d'hydrolyse enzymatique, notamment opérée de sorte que le pH du mélange réactionnel d'hydrolyse enzymatique soit compris de préférence entre 4 et 6, et en ce qu'on introduit au moins une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans ladite étape de neutralisation.
4. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend également une étape intégrée de production par des microorganismes du type champignons des enzymes nécessaires à l'hydrolyse enzymatique de l'étape g), et en ce qu'on introduit au moins une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans ladite étape de production d'enzymes.
5. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend également une étape intégrée de propagation de microorganismes du type bactéries ou levures nécessaires à la fermentation de l'étape h), et en ce qu'on introduit au moins une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans ladite étape de propagation.
6. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la durée de l'étape de lavage b) est comprise entre 1 et 60 minutes, et de préférence entre 1 et 15 minutes.
7. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la solution aqueuse de l'étape b) de lavage a un pH compris entre 5,5 et 7,5, notamment entre 6 et 7,5 ou entre 6,5 et 7,5.
8. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la solution aqueuse de l'étape b) de lavage est à une température comprise entre 25 et 90°C, notamment entre 30 et 60°C.
9. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la quantité de solution aqueuse amenée à l'étape b) de lavage est comprise entre 0,5 et 60 g/g biomasse, de préférence comprise entre 1 et 30 g/g biomasse, et notamment comprise entre 1,5 et 20 g/g biomasse.
10. Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'on réintroduit une partie de la solution aqueuse de lavage usée séparée à l'étape c) dans l'étape de lavage b).
11. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'on introduit dans l'étape b) de lavage une partie de l'effluent liquide issu de l'étape e).
12. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'à l'étape f), on réalise un prétraitement par explosion à la vapeur pour obtenir une vapeur et le substrat

lignocellulosique prétraité, de préférence pendant une durée d'au plus 30 minutes ou d'au plus 15 minutes.

13. Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'on condense la vapeur issue de l'étape f) de manière à produire un condensat acide, et en ce qu'on introduit dans l'étape b) de lavage au moins une partie du condensat acide seul ou en mélange avec de l'eau.

14. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'on intègre audit procédé une étape de production d'enzymes et/ou une étape de production/propagation des micro-organismes nécessaires aux étapes g) ou h), et en ce qu'on prévoit une étape d'extraction d'une partie au moins des jus sucrés obtenus après l'étape de prétraitement f) ou après l'étape d'hydrolyse enzymatique g), notamment par lavage du substrat par une solution aqueuse.

15. Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'on introduit une partie au moins de la solution aqueuse de lavage usée issue de l'étape c) pour l'extraction par lavage des jus sucrés.

Figure 1

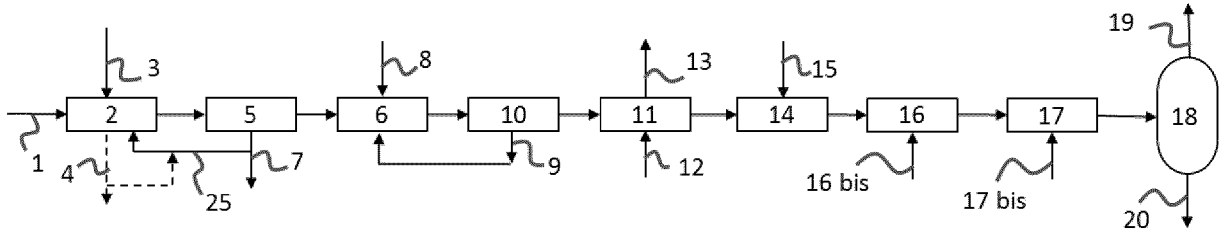


Figure 2

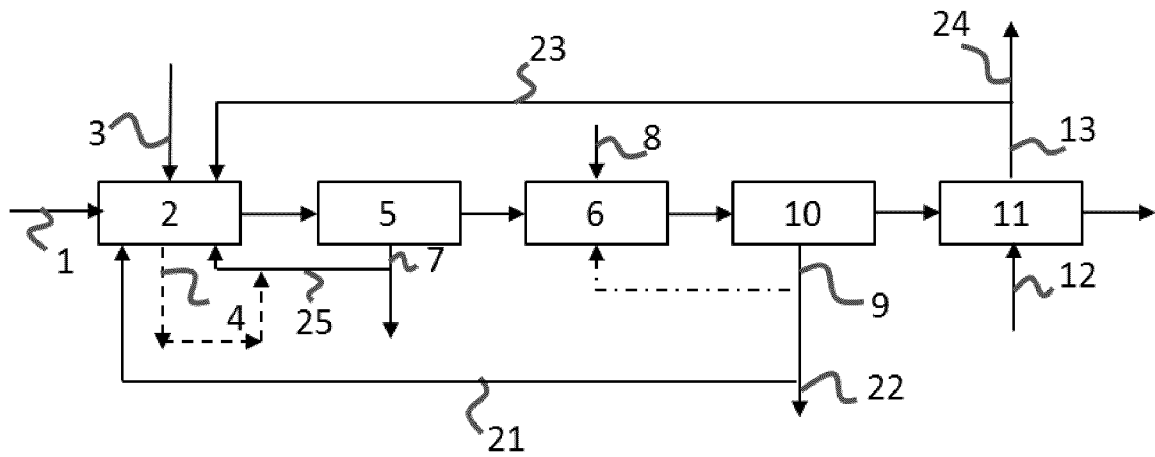


Figure 3

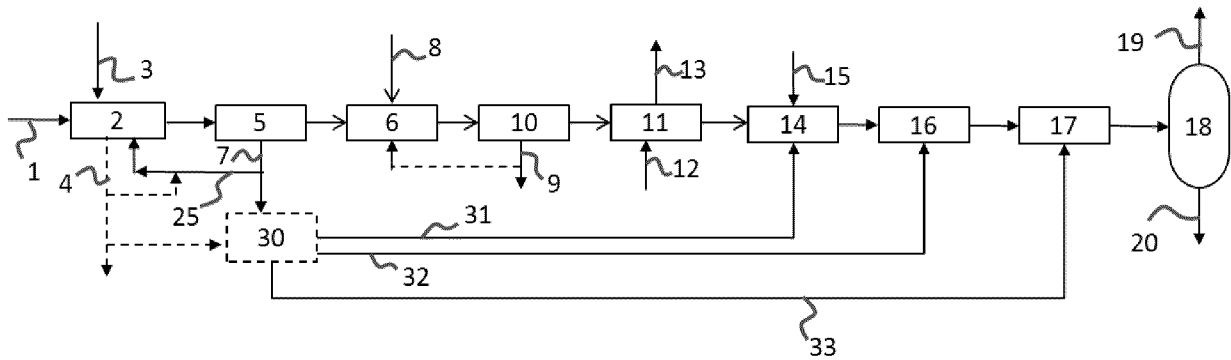


Figure 4

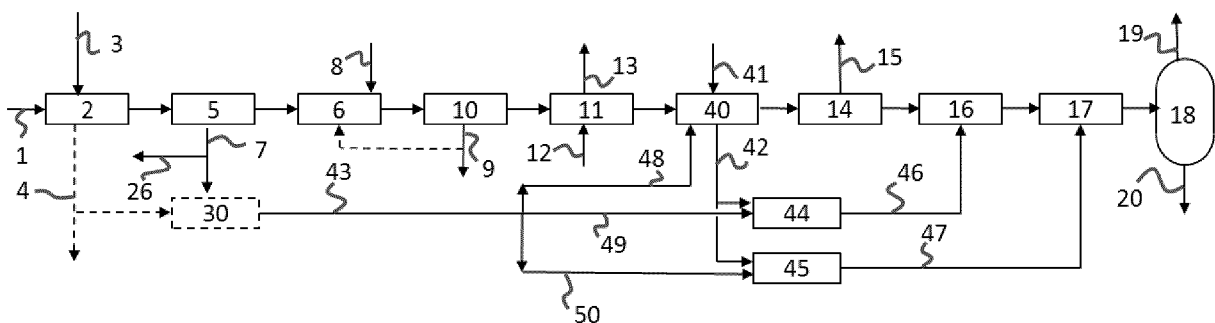


Figure 5

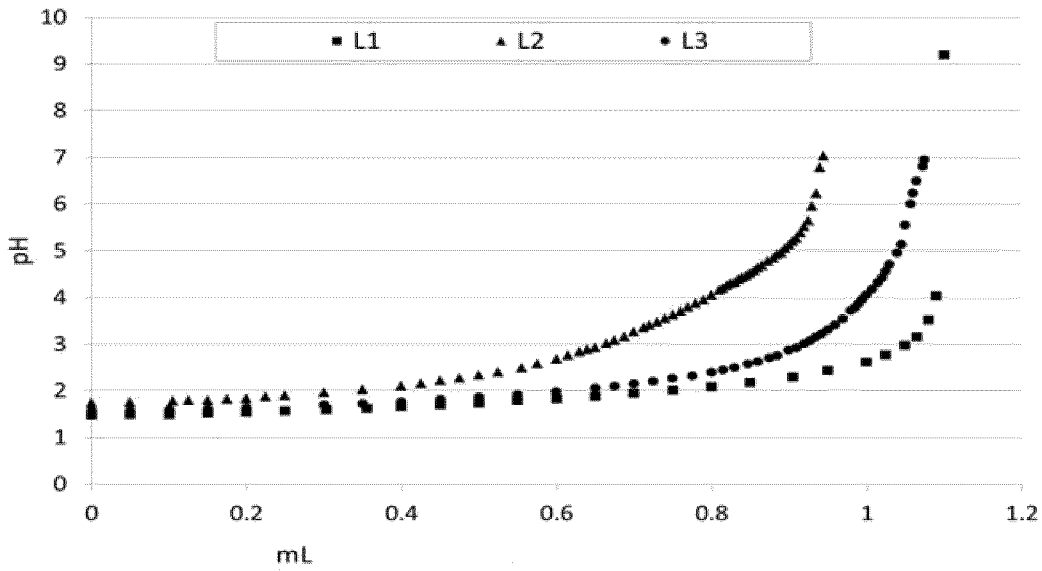


Figure 6

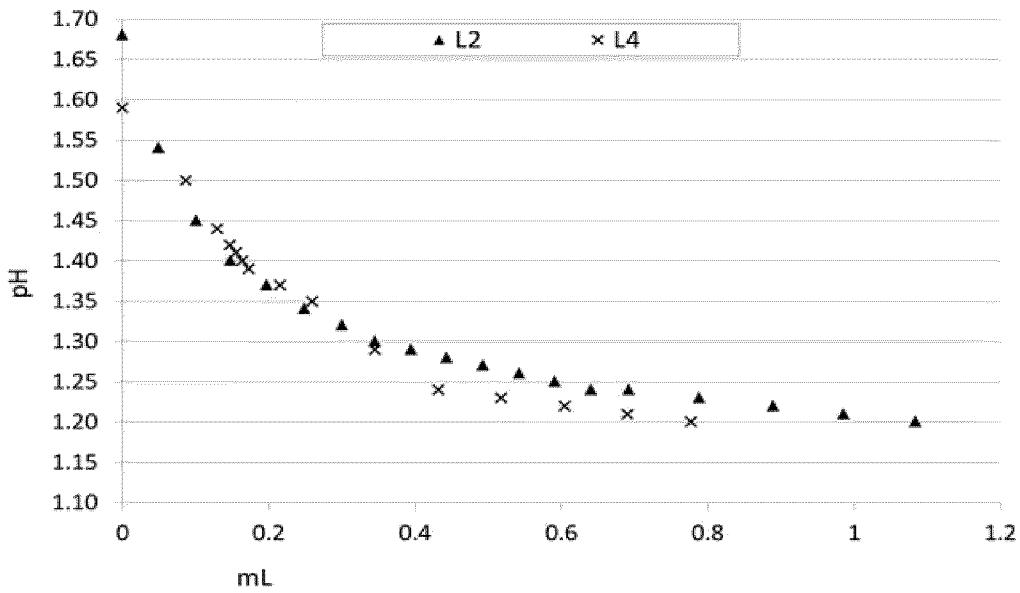


Figure 7

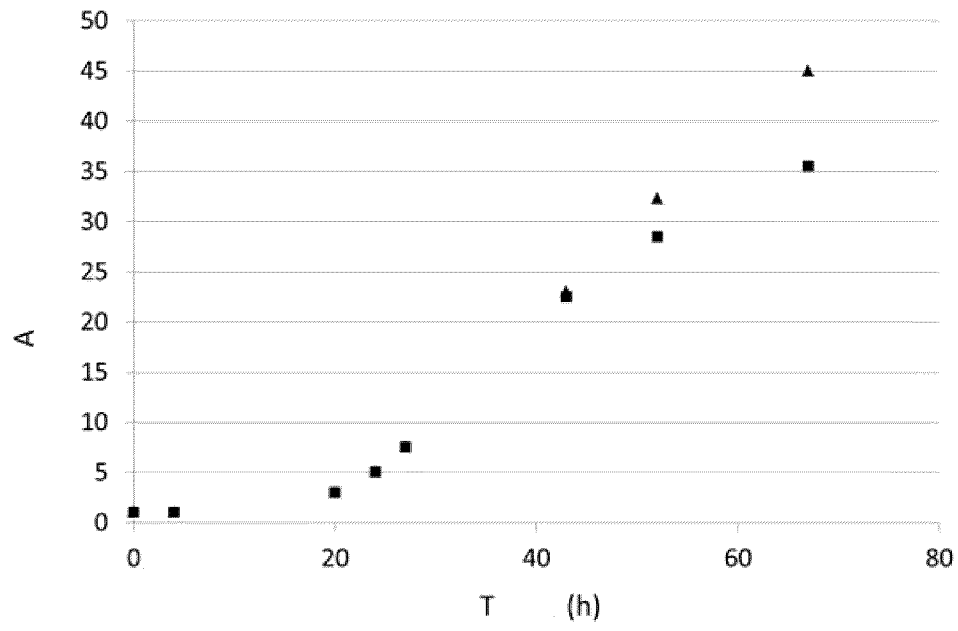


Figure 1

