

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

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
26 janvier 2012 (26.01.2012)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2012/010749 A2

(51) Classification internationale des brevets :

C12P 7/10 (2006.01) *D21C 3/18* (2006.01)
C12P 19/02 (2006.01) *D21C 3/20* (2006.01)
C12P 19/14 (2006.01) *C07H 3/04* (2006.01)
C13K 1/02 (2006.01) *C07H 1/06* (2006.01)
D21C 3/02 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2011/000425

(22) Date de dépôt international :

19 juillet 2011 (19.07.2011)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

1003093 23 juillet 2010 (23.07.2010) FR

(71) **Déposant** (pour tous les États désignés sauf US) : **IFP ENERGIES NOUVELLES** [FR/FR]; Direction Propriété Industrielle, 1 & 4 avenue de Bois Préau, F-92852 Rueil Malmaison Cedex (FR).

(72) **Inventeurs; et**

(75) **Inventeurs/Déposants** (pour US seulement) : **VALLEE, Christophe** [FR/FR]; 14 rue Jean Moulin, F-38360 Sassenage (FR). **MORVAN, Didier** [FR/FR]; 9 rue Louis Guillaumond, F-69440 Mornant (FR). **PELLIER, Emmanuel** [FR/FR]; 38 Lot les Oliviers, F-69420 Tupin Semons (FR). **OLIVIER-BOURBIGOU, Hélène** [FR/FR]; 18 rue Francisque Darcieux, F-69230 St Genis Laval (FR).

(74) **Mandataire** : **ELMALEH, Alfred**; Directeur- Propriété Industrielle, IFP ENERGIES NOUVELLES, 1 & 4, avenue de Bois Préau, F-92852 Rueil Malmaison Cedex (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport (règle 48.2.g))

(54) **Title** : METHOD FOR PRODUCING SUGARS FROM LIGNOCELLULOSIC BIOMASS PRETREATED WITH HYDRATED INORGANIC SALTS

(54) **Titre** : PROCÉDÉ DE PRODUCTION DE SUCRES A PARTIR DE BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE PRETRAITEE AVEC DES SELS INORGANIQUES HYDRATÉS

(57) **Abstract** : The present invention relates to a method for converting lignocellulosic biomass into sugars, comprising at least three steps. The first step is a step of cooking the lignocellulosic biomass in the presence of at least one hydrated inorganic salt. The second step is a step of separating at least one solid fraction having undergone the cooking step, and the third step is a step of enzymatic hydrolysis of said solid fraction so as to convert the polysaccharides into monosaccharides. The resulting sugars are then able to be fermented into alcohols.

(57) **Abstrégé** : La présente invention porte sur un procédé de conversion de la biomasse lignocellulosique en sucres, comprenant au moins trois étapes. La première étape est une étape de cuisson de la biomasse lignocellulosique en présence d'au moins un sel inorganique hydraté. La seconde étape est une étape de séparation d'au moins une fraction solide ayant subi l'étape de cuisson et la troisième étape est une étape d'hydrolyse enzymatique de ladite fraction solide pour convertir les polysaccharides en monosaccharides. Les sucres ainsi obtenus sont ensuite fermentescibles en alcools.



WO 2012/010749 A2

**PROCÉDÉ DE PRODUCTION DE SUCRES A PARTIR DE BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE
PRETRAITEE AVEC DES SELS INORGANIQUES HYDRATÉS**

Domaine de l'invention

La présente invention s'inscrit dans le cadre d'un procédé de production d'alcool dit "de seconde génération" à partir de biomasse lignocellulosique.

5

Art antérieur

Devant l'augmentation de la pollution et du réchauffement climatique, de nombreuses études sont actuellement menées pour utiliser et optimiser les bioressources renouvelables, comme la biomasse lignocellulosique.

10

La biomasse lignocellulosique est composée de trois principaux polymères : 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 un polymère de structure complexe et de haut poids moléculaire, provenant de la copolymérisation d'alcools phénylpropénoïques.

15

Ces différentes molécules sont responsables des propriétés intrinsèques de la paroi végétale et s'organisent en un enchevêtrement complexe.

20

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 liés 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. Il est donc indispensable de mettre au point de nouvelles méthodes de prétraitement de la biomasse lignocellulosique pour un accès plus aisé à la cellulose et permettre sa transformation.

25

30

La production de biocarburant est une application nécessitant un prétraitement de la biomasse. En effet, la seconde génération de biocarburant utilise comme charge les déchets végétaux ou agricoles, tel que le bois, la paille de blé, ou des plantations dédiées à fort potentiel de croissance comme le miscanthus. Cette matière première est perçue comme une solution alternative, durable, ayant peu ou pas d'impact sur l'environnement et son coût faible et sa grande disponibilité en font un solide candidat pour la production de biocarburants.

35

Le principe du procédé de conversion de la biomasse lignocellulosique en biocarburant utilise une étape d'hydrolyse enzymatique de la cellulose contenue dans les matières végétales pour produire du glucose. Ce glucose est ensuite fermenté en éthanol, le biocarburant.

5

Cependant, la cellulose contenue dans la biomasse lignocellulosique est particulièrement réfractaire à l'hydrolyse enzymatique, notamment car la cellulose n'est pas directement accessible aux enzymes. Pour s'affranchir de ce caractère réfractaire, une étape de prétraitement en amont de l'hydrolyse enzymatique est nécessaire. Il existe de nombreuses méthodes de traitement des matériaux riches en cellulose, chimique, enzymatique, microbiologique pour améliorer l'étape ultérieure d'hydrolyse enzymatique.

10

Ces méthodes sont par exemple : l'explosion à la vapeur, le procédé organosolv, l'hydrolyse à l'acide dilué ou concentré ou encore le procédé AFEX ("Ammonia Fiber Explosion"). Ces techniques sont encore perfectibles et souffrent notamment de coûts encore trop élevés, de problèmes de corrosion, de faibles rendements et de difficultés d'extrapolation au niveau industriel (F. Talebnia, D. Karakashev, I. Angelidaki *Biores. Technol.* **2010**, 101, 4744-4753).

15

Depuis quelques années, un nouveau type de prétraitement consistant à utiliser des liquides ioniques est étudié. Les liquides ioniques sont des sels, constitués uniquement d'ions liquides à des températures inférieures ou égales à 100°C et permettent d'obtenir des milieux hautement polaires. Ils sont ainsi utilisés comme solvants ou comme milieux réactionnels de traitement de la cellulose ou des matières lignocellulosiques (WO 05/17252 ; WO 05/23873). Mais au même titre que les autres prétraitements, les liquides ioniques présentent des problèmes de coûts importants liés aux prix des liquides ioniques, à leur recyclabilité souvent difficile, et à leur disponibilité limitée.

20

25

Il apparaît nécessaire de limiter les coûts de prétraitement, notamment en utilisant des réactifs facilement disponibles et peu chers. C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente invention.

30

Résumé de l'invention

35

La présente invention porte sur un procédé de conversion de la biomasse lignocellulosique en sucres, comprenant au moins trois étapes. La première étape est une étape de cuisson de la biomasse lignocellulosique dans un milieu comprenant au moins un sel inorganique

hydraté. La seconde étape est une étape de séparation d'au moins une fraction solide ayant subi l'étape de cuisson et la troisième étape est une étape d'hydrolyse enzymatique de ladite fraction solide pour convertir les polysaccharides en monosaccharides. Les sucres ainsi obtenus sont ensuite fermentescibles en alcools.

5

Description des Figures

La Figure 1 représente la cinétique de l'hydrolyse enzymatique de la paille de blé selon le procédé de la présente invention, mettant en œuvre une étape de cuisson de la biomasse en présence de $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ à 140 °C.

10

La Figure 2 représente la cinétique de l'hydrolyse enzymatique de la paille de blé selon le procédé de la présente invention, mettant en œuvre une étape de cuisson de la biomasse en présence de $\text{LiCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à 140 °C.

15

La Figure 3 représente la cinétique de l'hydrolyse enzymatique de la paille de blé selon le procédé de la présente invention, mettant en œuvre une étape de cuisson de la biomasse en présence de $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ contenant 5% massique de LiCH_3COO à 140 °C.

20

La Figure 4 représente la cinétique de l'hydrolyse enzymatique de la paille de blé selon le procédé de la présente invention, mettant en œuvre une étape de cuisson de la biomasse en présence de $\text{LiBr} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à 120 °C.

La Figure 5 représente la cinétique de l'hydrolyse enzymatique de la paille de blé réalisée sur une paille de blé native, n'ayant subi aucun prétraitement.

25

La Figure 6 représente la cinétique de l'hydrolyse enzymatique de la paille de blé lorsqu'elle est prétraitée par explosion à la vapeur préalablement à l'hydrolyse enzymatique.

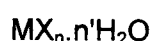
Description détaillée de l'invention

30

Le procédé de conversion de biomasse lignocellulosique en monosaccharides selon la présente invention comprend au moins :

- a) une étape de cuisson de la biomasse, à une température comprise entre 120 et 250°C, en présence ou en absence d'un solvant organique, dans un milieu comprenant un ou plusieurs sels inorganiques hydratés de formule (1) :

35



dans lequel X est un anion et M un métal choisi dans les groupes 1 et 2 de la classification périodique, n est un nombre entier valant 1 ou 2 et n' étant compris entre 0,5 et 6;

- b) une étape de séparation d'une fraction solide ayant subi l'étape de cuisson ;
- 5 c) une étape d'hydrolyse enzymatique de ladite fraction solide.

Ce procédé permet de transformer la biomasse lignocellulosique en sucres fermentescibles avec d'excellents rendements. Il présente de plus l'avantage d'utiliser des réactifs peu chers, largement disponibles et recyclables, permettant ainsi d'obtenir un coût de prétraitement
10 faible, notamment par rapport à un procédé utilisant des liquides ioniques. Cette technologie est également simple à mettre en œuvre et permet d'envisager aisément une extrapolation au niveau industriel.

Grâce au procédé selon la présente invention, la transformation de la biomasse lignocellulosique en sucres fermentescibles est réalisée avec un excellent rendement.
15 L'étape de cuisson réalisée selon le procédé de la présente invention permet de réduire la durée d'hydrolyse enzymatique par rapport aux procédés décrits dans l'art antérieur. Le procédé selon la présente invention permet d'atteindre des rendements glucose élevés avec des temps d'hydrolyse enzymatique courts, permettant un gain important en terme de productivité des équipements puisqu'il devient possible d'utiliser des quantités d'enzymes
20 moindre et/ou de réduire la taille des cuves d'hydrolyse enzymatique.

De façon préférée, le milieu dans lequel l'étape de cuisson est réalisé est constitué d'un ou plusieurs sels inorganiques hydratés de formule (1).

Cette étape de cuisson est réalisée en présence ou en absence d'un solvant organique.

La biomasse lignocellulosique, ou matériaux lignocellulosiques employés dans le procédé
25 selon l'invention est obtenue à partir de bois (feuillus et résineux), brut ou traité, de sous produits de l'agriculture tels que la paille, de fibres de plantes, de cultures forestières, de résidus de plantes alcooligènes, sucrières et céréalières, de résidus de l'industrie papetière, ou de produits de transformations de matériaux celluloseux ou lignocellulosiques. Les matériaux lignocellulosiques peuvent également être des biopolymères et sont
30 préférentiellement riches en cellulose.

Préférentiellement la biomasse lignocellulosique utilisée est du bois, de la paille de blé, de la pulpe de bois, de la paille de riz ou des tiges de maïs.

Selon le procédé de la présente invention, les différents types de biomasse lignocellulosique peuvent être utilisés seuls ou en mélange.

5 Dans l'étape de cuisson, la biomasse lignocellulosique est présente dans une quantité comprise entre 0,5% et 40% poids de la masse totale du mélange biomasse lignocellulosique/sel inorganique hydraté, préférentiellement dans une quantité comprise entre 3% et 25% poids.

10 De façon préférée, l'anion X est un anion halogénure choisi parmi Cl, F, Br et I, un anion perchlorate (ClO_4), un anion thiocyanate (SCN), un anion nitrate (NO_3) ou un anion acétate (CH_3COO).

Le métal M est de préférence choisi parmi le lithium, le magnésium, le calcium, le potassium ou le sodium.

15 De façon préférée, dans la formule $\text{MX}_n \cdot n'\text{H}_2\text{O}$ (1) du sel inorganique hydraté, n' est compris entre 0,5 et 3, de préférence entre 0,5 et 2.

20 Selon un mode de réalisation préféré, le sel inorganique hydraté est un sel de formule $\text{LiX} \cdot n'\text{H}_2\text{O}$, dans lequel l'anion X est le chlore ou le brome. De façon encore plus préférée, le sel inorganique hydraté est un sel de formule $\text{LiX} \cdot n'\text{H}_2\text{O}$, dans lequel l'anion X est le chlore ou le brome et n' est compris entre 0,5 et 2.

De façon encore plus préférée, l'anion X est le chlore et à titre d'exemples, les sels inorganiques hydratés utilisés sont $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ou $\text{LiCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Le milieu dans lequel est réalisé l'étape de cuisson de la biomasse peut être constitué d'un mélange de différents sels inorganiques hydratés répondant à la formule (1).

25 Selon la présente invention, le sel inorganique répondant à la formule (1) peut être préparé in situ par l'association d'un sel composé d'un cation des groupes 1 et 2 de la classification périodique et d'un anion carbonate, hydrogénocarbonate ou hydroxyde avec un acide. L'acide peut être utilisé pur ou en solution aqueuse.

A titre d'exemples de sels inorganiques hydratés pouvant être utilisés pour l'étape de cuisson selon la présente invention, on peut citer $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{LiBr} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaBr}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{KF} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{LiCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{LiCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$.

- 5 Selon le procédé de la présente invention, plusieurs étapes de cuisson successives peuvent être réalisées dans un milieu constitué d'un ou plusieurs sels inorganiques hydratés répondant à la formule (1).

De façon préférée, pour l'étape de cuisson a), la température de cuisson est comprise de
10 préférence entre 120 et 160°C.

La durée de la cuisson est comprise entre 0,5 minute et 168 h, préférentiellement entre 5 minutes et 4h et encore plus préférentiellement entre 20 minutes et 2h.

- 15 L'étape de cuisson de la biomasse lignocellulosique peut être réalisée en présence d'un solvant organique, choisi parmi les alcools tels que le méthanol, l'éthanol, le n-propanol, l'isopropanol, le n-butanol, l'isobutanol ou le tert-butanol, les diols et polyols tels que l'éthanediol, le propanediol ou le glycérol, les amino alcools tels que l'éthanolamine, la diéthanolamine ou la triéthanolamine, des cétones telles que l'acétone ou la
20 méthyléthylcétone, le diméthylformamide, le diméthylacétamide, le diméthylsulfoxyde, l'acétonitrile, les solvants aromatiques tels que le benzène, le toluène, les xylènes, les alcanes.

- Selon un autre mode de réalisation, l'étape de cuisson de la biomasse lignocellulosique peut
25 être réalisée en absence de solvant organique.

La deuxième étape b) du procédé selon l'invention consiste à séparer une fraction solide qui a subi l'étape de cuisson a) décrite précédemment. Cette séparation est généralement réalisée par addition d'au moins un anti-solvant qui entraîne la précipitation de la fraction
30 solide.

La séparation de cette fraction solide précipitée et d'une fraction liquide contenant le sel inorganique hydraté et l'anti-solvant peut-être réalisée par les techniques usuelles de séparation solide-liquide. Par exemple, la séparation de la fraction solide ayant subi l'étape de cuisson a) décrite précédemment peut être réalisée par filtration ou par centrifugation.

- 35 La fraction solide peut éventuellement être soumise à des traitements supplémentaires avant l'étape d'hydrolyse enzymatique. Ces traitements supplémentaires peuvent en particulier

avoir pour objectif d'éliminer les traces de sels inorganiques hydratés et/ou de sels métalliques dans la fraction solide ayant subi l'étape de cuisson. Ces traitements supplémentaires peuvent être par exemple des lavages, réalisés avec l'anti-solvant, avec de l'eau ou avec tout autre flux du procédé.

- 5 Le liquide obtenu après lavage contient le fluide utilisé pour le traitement supplémentaire et les traces de sels inorganiques hydratés et/ou de sels métalliques. Ce liquide peut avantageusement être recyclé pour être utilisé lors de l'étape de séparation, permettant ainsi un meilleur taux de récupération des sels et une meilleure pureté de la fraction solide tout en limitant la consommation d'anti-solvant ou autre fluide de lavage.
- 10 La fraction solide qui a subi l'étape de cuisson a) décrite précédemment peut optionnellement être séchée ou pressée pour augmenter le pourcentage de matière sèche contenu dans le solide.

- 15 L'anti-solvant utilisé est un solvant ou un mélange de solvant choisi parmi l'eau, les alcools tels que le méthanol, l'éthanol, le n-propanol, l'isopropanol, le n-butanol, l'isobutanol ou le tert-butanol, les diols et polyols tels que l'éthanediol, le propanediol ou le glycérol, les amino alcools tels que l'éthanolamine, la diéthanolamine ou la triéthanolamine, des cétones telles que l'acétone ou la méthyléthylcétone, le diméthylformamide, le diméthylacétamide, le diméthylsulfoxyde, l'acétonitrile.
- 20 De préférence, l'anti-solvant est choisi parmi l'eau, le méthanol ou l'éthanol.
De manière très préférée, l'anti-solvant est l'eau.

- 25 Le sel inorganique hydraté contenu dans la fraction liquide peut être séparé de l'anti-solvant et recyclé par exemple pour être utilisés lors de l'étape de cuisson.. Cette séparation peut être réalisée par tous procédés connus de l'homme de l'art comme par exemple l'évaporation, la précipitation, l'extraction, le passage sur résine échangeuse d'ion, l'électrodialyse, les méthodes chromatographiques, la solidification du sel inorganique hydraté par abaissement de la température ou l'addition d'un tiers corps, l'osmose inverse.

- 30 La fraction liquide contenant le sel inorganique hydraté et l'antisolvant peut également contenir des produits dérivés de la biomasse. Par exemple, la fraction liquide peut contenir de l'hémicellulose (ou des produits dérivés de l'hémicellulose) et de la lignine.
- 35 Les produits dérivés de la biomasse contenus dans la fraction liquide peuvent être séparés avant ou après la séparation sel inorganique hydraté – anti-solvant. Les produits dérivés de la biomasse peuvent par exemple être extraits par addition d'un solvant non miscibles avec le sel inorganique hydraté ou avec le mélange sel inorganique hydraté – anti-solvant. Les

produits dérivés de la biomasse peuvent également être précipités par modification des conditions (température, pH, etc...) ou par addition d'un tiers corps.

5 Le ou les sels inorganiques ainsi récupérés peuvent être purifiés par chauffage à hautes températures, supérieures à 400 °C, pour éliminer par combustion les produits organiques dérivés de la biomasse potentiellement encore présents.

10 La troisième étape c) du procédé selon l'invention est l'étape d'hydrolyse enzymatique de la fraction solide enrichie en cellulose.

La fraction solide qui a subi l'étape de cuisson, encore appelée ci-dessous substrat prétraité est soumise à une hydrolyse enzymatique pour convertir les polysaccharides en monosaccharides dans les conditions habituelles normalement appliquées dans ces procédés de conversion.

15 Typiquement, le substrat prétraité est placé en milieu aqueux pour atteindre des concentrations en matière sèche comprise entre 0,5% et 40%, préférentiellement entre 1% et 20% poids.

20 L'hydrolyse enzymatique s'effectue dans des conditions douces, à une température de l'ordre de 40 à 60°C, à un pH compris entre 4,5 et 5,5. Très préférentiellement, le pH est compris entre 4,8 et 5,2. Si une mise au pH est nécessaire, elle est réalisée préalablement à l'étape d'hydrolyse enzymatique, lorsque le substrat prétraité est placé en milieu aqueux, notamment par addition d'une solution tampon.

25 L'hydrolyse enzymatique est réalisée au moyen d'enzymes produites par un microorganisme. Des microorganismes, comme les champignons appartenant aux genres *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium* ou *Schizophyllum*, ou les bactéries anaérobies appartenant par exemple au genre *Clostridium*, produisent ces enzymes, contenant
30 notamment les cellulases et les hémicellulases, adaptées à l'hydrolyse poussée de la cellulose et des hémicelluloses.

La durée de l'étape c) d'hydrolyse varie entre 1h et 150h, préférentiellement entre 2h et 72h, préférentiellement entre 4h et 24h.

A l'issue de l'étape d'hydrolyse enzymatique, le glucose formé est soluble dans l'eau alors que la cellulose éventuellement non-convertie, la lignine ou d'autres produits restent insolubles. La solution aqueuse de glucose est récupérée par filtration.

5 Le monosaccharide ainsi obtenu est facilement transformé en alcool par fermentation avec des levures comme par exemple *Saccharomyces cerevisiae*. Le moût de fermentation obtenu est ensuite distillé pour séparer les vinasses et l'alcool produit.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'étape d'hydrolyse enzymatique est réalisée simultanément avec la fermentation.

EXEMPLES

10

Le substrat utilisé dans ces exemples est une paille de blé. L'analyse compositionnelle réalisée selon le protocole NREL TP-510-42618 indique que la composition du substrat brut est la suivante: 37% cellulose, 28% hémicellulose et 20% lignine.

15 Les exemples 1 à 4 sont conformes à l'invention. L'exemple 5 est donné à titre comparatif l'hydrolyse enzymatique étant effectuée sur une paille de blé native. L'exemple 6 est un exemple comparatif, le prétraitement réalisé consistant en une explosion à la vapeur, actuellement connu comme étant une des meilleures technologies pour obtenir des sucres fermentescibles.

20

Exemple 1: Prétraitement de la paille de blé par $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ à 140 °C et hydrolyse enzymatique

25 38 g de $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ et 2 g de paille de blé (500-1000 μm) sont placés dans un ballon de 170 ml et agités mécaniquement par des pâles à 140°C pendant 1h dans un agitateur Tornado® muni d'un carrousel 6 positions (Radleys).

Après cette cuisson (étape a) du procédé selon l'invention), le chauffage est arrêté et 80 ml d'eau distillée sont rapidement ajoutés au mélange : la paille prétraitée précipite. La suspension contenant le sel inorganique, l'eau et la biomasse est placée dans un tube à centrifugation et agitée à 9500 tr/min pendant 10 minutes. Le surnageant, contenant le sel
30 inorganique est ensuite séparé du solide. L'opération est répétée trois fois par addition de 80 ml d'eau distillée sur la partie solide encore présente dans le tube à centrifugation.

3,89 g de solide, avec une teneur en matière sèche de 35%, sont récupérés.

Le solide récupéré après précipitation et lavage est soumis à une hydrolyse enzymatique. La moitié du solide récupéré est placé dans un flacon Schott de 100 ml. On ajoute 5 ml de tampon acétate, 10 ml d'une solution 1% poids de NaN_3 dans de l'eau puis on complète jusqu'à 100 g avec de l'eau distillée. Cette solution est ensuite laissée une nuit à 50°C pour "activation" sous une agitation de 550 tr/min dans un bain marie à sec STEM. On ajoute ensuite à la solution des quantités connues d'enzyme:

- Cellulases XL508, 10FPU par gramme de matière sèche
- β -glucosidases NOVOZYM 188, 25 CBU par gramme de matière sèche

La solution est ensuite agitée à 400 tr/min à 50°C, toujours dans les bains marie à sec, et des prélèvements sont effectués au bout de 1 h, 4 h et 7 h. Ces prélèvements sont placés dans des tubes à centrifuger et rapidement placés 10 minutes dans une huile à une température de 103 °C pour neutraliser l'activité enzymatique. Les tubes à centrifuger sont stockés dans un réfrigérateur à 4°C en attendant la mesure en glucose. Ils sont ensuite dilués par 5 avec de l'eau distillée avant d'être dosés à l'aide de l'appareillage analyseur Analox GL6, appelé glucostat, qui mesure par dosage enzymatique la concentration en glucose dans des solutions aqueuses.

Le résultat de l'hydrolyse enzymatique est présentée sur la figure 1. Il est exprimé en rendement glucose, défini comme le rapport de la concentration en glucose dans la solution sur la concentration maximale théorique selon la teneur en cellulose de la paille de blé native. Ce rendement glucose représente donc le pourcentage de la cellulose effectivement transformée en glucose.

Exemple 2: Prétraitement de la paille de blé par $\text{LiCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à 140 °C et hydrolyse enzymatique

Le protocole est identique à celui de l'exemple 1 hormis le fait que 38 g de $\text{LiCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sont utilisés à la place de 38 g de $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Le résultat de l'hydrolyse enzymatique est représenté sur la figure 2.

Exemple 3: Prétraitement de la paille de blé à 140 °C par $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ contenant 5 % massique de $\text{LiCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ et hydrolyse enzymatique

Le protocole est identique à celui de l'exemple 1 hormis le fait que 38 g de $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ contenant 5 % massique de $\text{LiCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ sont utilisés à la place de 38 g de $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Le résultat de l'hydrolyse enzymatique est représenté sur la figure 3.

Exemple 4: Prétraitement de la paille de blé à 120 °C par $\text{LiBr} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et hydrolyse enzymatique

Le protocole est identique à celui de l'exemple 1 hormis le fait que 38 g de $\text{LiBr} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sont utilisés à la place de 38 g de $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ et que l'étape de cuisson est réalisée à 120 °C. Le résultat de l'hydrolyse enzymatique est représenté sur la figure 4.

Exemple 5 (non conforme à l'invention): Hydrolyse enzymatique de la paille de blé native (sans prétraitement)

Le protocole utilisé pour l'hydrolyse enzymatique est identique à celui décrit dans l'exemple 1. La paille de blé est utilisée native, sans aucun prétraitement.

Le résultat de l'hydrolyse enzymatique est représenté sur la figure 5.

Exemple 6 (non conforme à l'invention): Hydrolyse enzymatique de la paille de blé issue d'un prétraitement par explosion à la vapeur.

Le protocole utilisé pour l'hydrolyse enzymatique est identique à celui décrit dans l'exemple 1. La paille de blé utilisée a été prétraitée par explosion à la vapeur, prétraitement dont les trois étapes sont décrites ci-dessous.

1. Imprégnation de la paille de blé avec de l'acide sulfurique 0,1 N pendant 8 heures minimum suivi d'un égouttage et d'un pressage (100 bar) de la paille pour obtenir un solide à environ 30% de matière sèche.
2. Prétraitement à 210°C (18 bar) de la paille pendant 2,5 minutes puis décompression.
3. Traitement final par pressage à 100 bar.

Le résultat de l'hydrolyse enzymatique est représenté sur la figure 6.

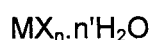
A partir des différentes figures représentatives de chacun des exemples, il apparaît que le procédé selon la présente invention permet d'obtenir rapidement (au bout de 1 heure d'hydrolyse enzymatique) des rendements glucose supérieurs à ceux obtenus sans prétraitement, ou même après un prétraitement de type explosion à la vapeur, puisque dans ce cas, le rendement glucose à une heure n'est que d'environ 20%.

De la même manière, les rendements glucose obtenus au bout de 7 heures d'hydrolyse enzymatique sont améliorés par rapport à ceux de la technologie de référence (explosion à la vapeur), lorsque l'étape de cuisson est réalisée selon le procédé décrit dans la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Procédé de conversion de biomasse lignocellulosique en monosaccharides comprenant au moins :

a) une étape de cuisson de la biomasse, à une température comprise entre 120 et 250°C, en présence ou en absence d'un solvant organique, dans un milieu comprenant un ou plusieurs sels inorganiques hydratés de formule (1)



dans lequel X est un anion et M un métal choisi dans les groupes 1 et 2 de la classification périodique, n est un entier valant 1 et 2 et n' étant compris entre 0,5 et 6;

b) une étape de séparation d'une fraction solide ayant subi l'étape de cuisson a) ;

c) une étape d'hydrolyse enzymatique de ladite fraction solide.

2. Procédé de conversion selon la revendication précédente dans lequel le milieu dans lequel l'étape de cuisson est réalisé est constitué d'un ou plusieurs sels inorganiques hydratés de formule (1).

3. Procédé selon l'une des revendications précédentes dans lequel l'anion X est un anion halogénure choisi parmi Cl, F, Br, I, un anion perchlorate, un anion thiocyanate, un anion nitrate ou un anion acétate.

4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3 dans lequel le métal M est choisi parmi le lithium, le magnésium, le calcium, le potassium ou le sodium.

5. Procédé selon l'une des revendications précédentes dans lequel le sel inorganique hydraté répond à la formule (1) dans lequel n' est compris entre 0,5 et 3, de préférence entre 0,5 et 2.

6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5 dans lequel le sel hydraté est un sel de formule $LiX.n'H_2O$, dans lequel l'anion X est le chlore ou le brome.

7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 6 dans lequel la biomasse lignocellulosique est présente dans une quantité comprise entre 0,5% et 40% poids de la

masse totale du mélange biomasse lignocellulosique/sel inorganique hydraté, préférentiellement dans une quantité comprise entre 3% et 25% poids.

8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7 dans lequel l'étape de cuisson a) est réalisée dans un milieu constitué d'un mélange de différents sels inorganiques hydratés répondant à la formule (1).

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8 dans lequel l'étape de cuisson est réalisée à une température comprise entre 120 et 160°C.

10. Procédé selon des revendications 1 à 9 dans lequel la durée de cuisson est comprise entre 0,5 min et 168 h, de préférence entre 5 minutes et 2 heures.

11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 10 dans lequel l'étape de cuisson de la biomasse lignocellulosique est réalisée en présence d'un solvant organique, choisi parmi les alcools tels que le méthanol, l'éthanol, le n-propanol, l'isopropanol, le n-butanol, l'isobutanol ou le tert-butanol, les diols et polyols tels que l'éthanediol, le propanediol ou le glycérol, les amino alcools tels que l'éthanolamine, la diéthanolamine ou la triéthanolamine, des cétones telles que l'acétone ou la méthyléthylcétone, le diméthylformamide, le diméthylacétamide, le diméthylsulfoxyde, l'acétonitrile, les solvants aromatiques tels que le benzène, le toluène, les xylènes, les alcanes.

12. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11 dans lequel l'étape de séparation de la fraction solide enrichie en cellulose est réalisée par précipitation par addition d'au moins un anti-solvant choisi parmi l'eau, les alcools tels que le méthanol, l'éthanol, le n-propanol, l'isopropanol, le n-butanol, l'isobutanol ou le tert-butanol, les diols et polyols tels que l'éthanediol, le propanediol ou le glycérol, les amino alcools tels que l'éthanolamine, la diéthanolamine ou la triéthanolamine, des cétones telles que l'acétone ou la méthyléthylcétone, le diméthylformamide, le diméthylacétamide, le diméthylsulfoxyde, l'acétonitrile.

13. Procédé selon l'une des revendications 1 à 12 dans lequel l'hydrolyse enzymatique est réalisée à une température de l'ordre de 40 à 60°C, à un pH compris entre 4,5 et 5,5, pendant une durée variant de 1 à 150h.

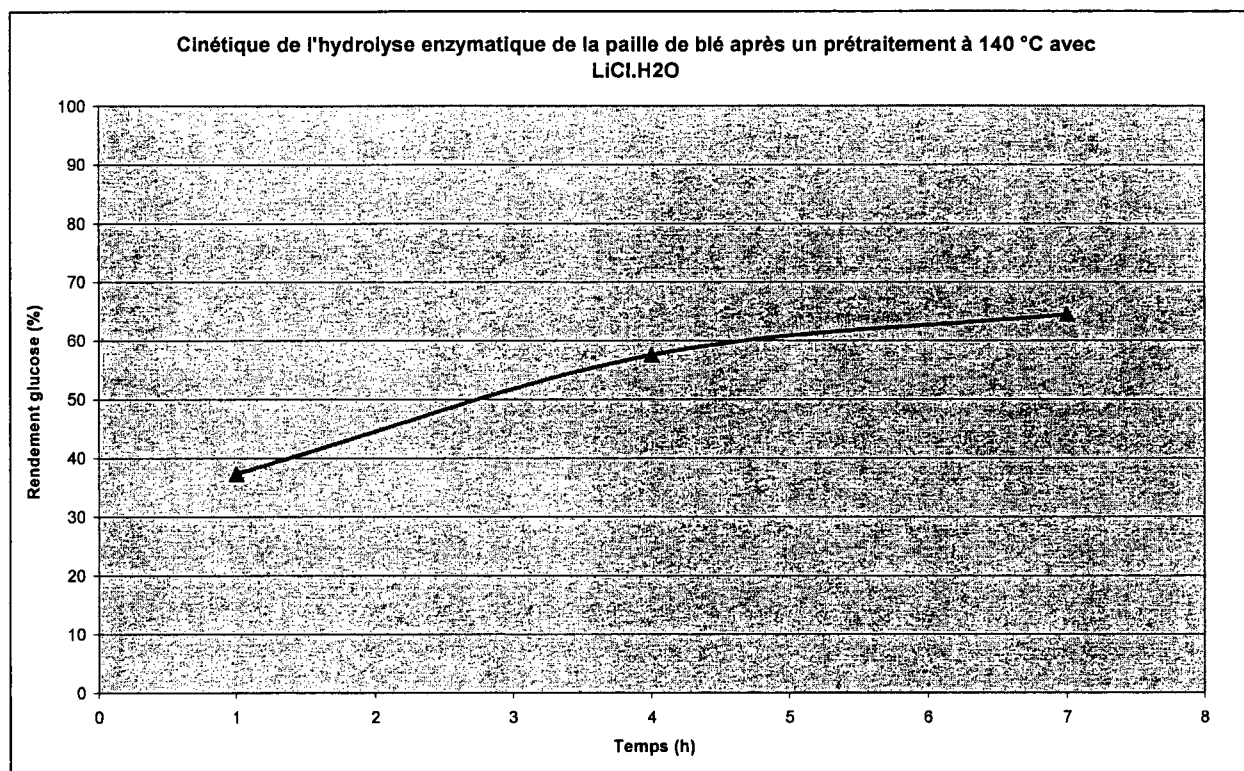


Figure 1

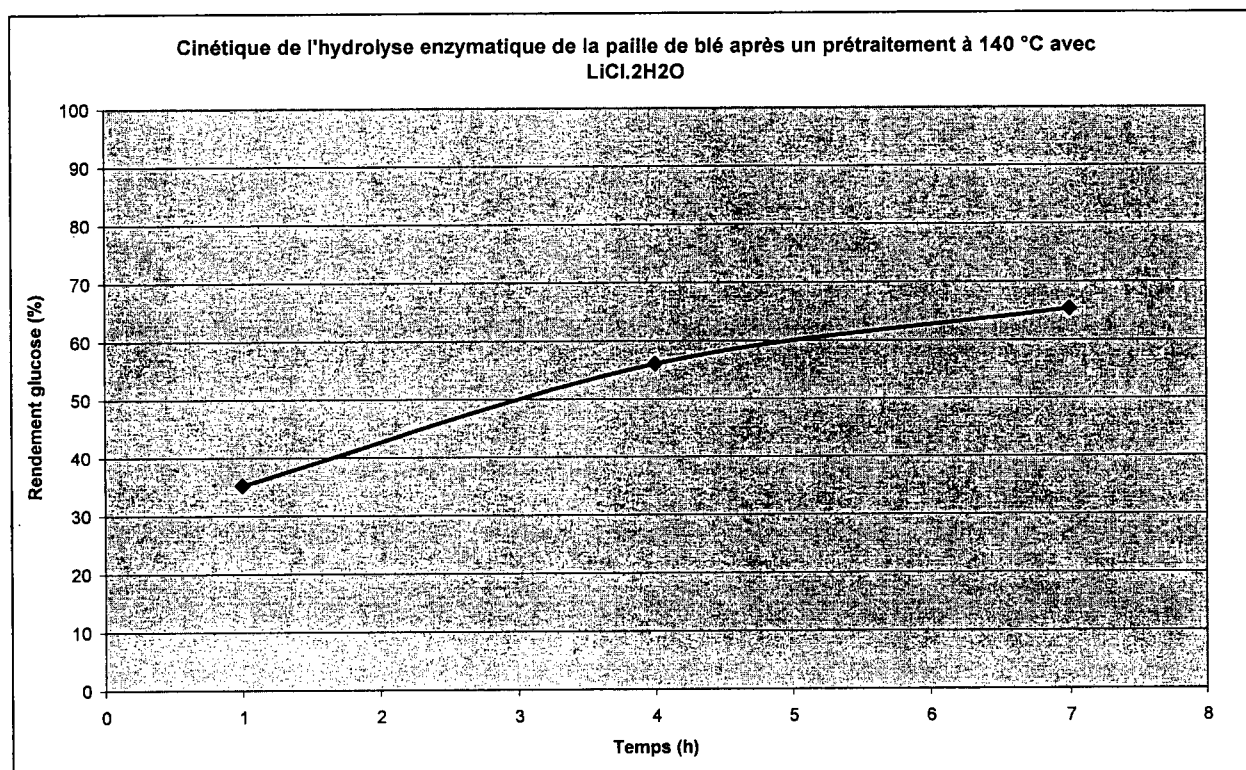


Figure 2

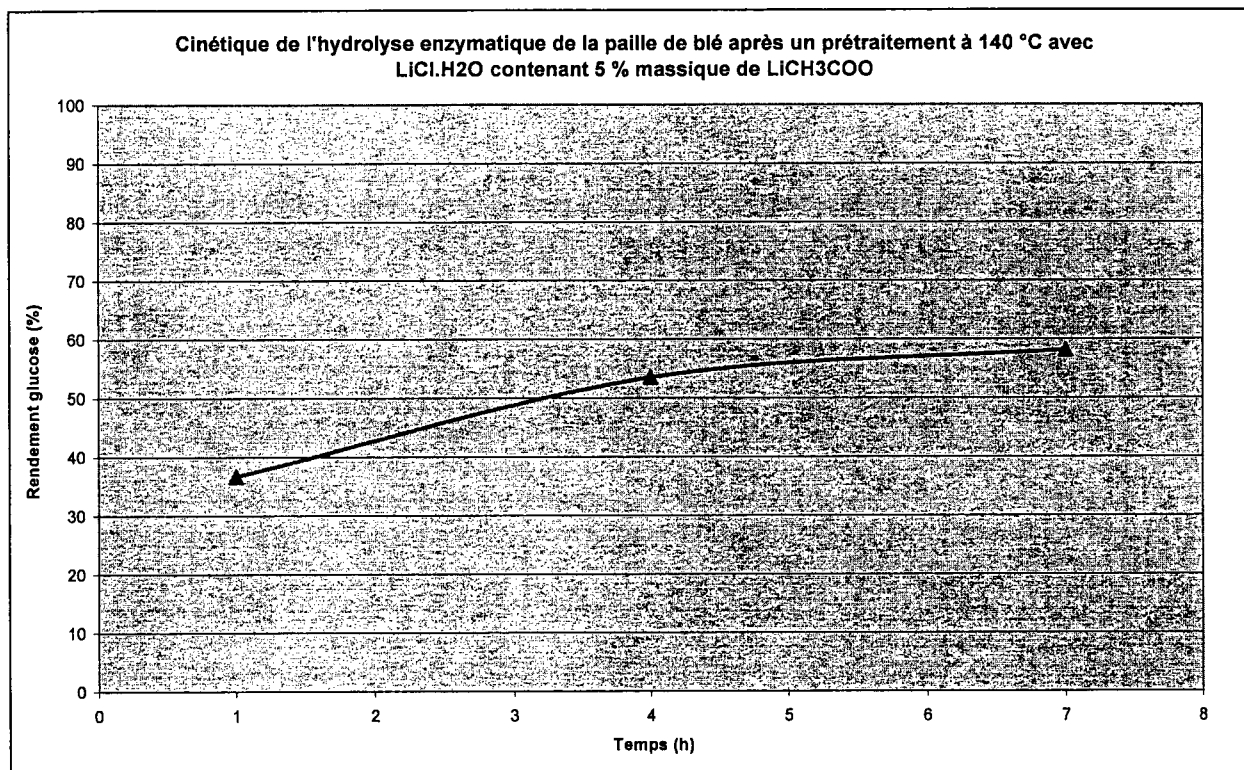


Figure 3

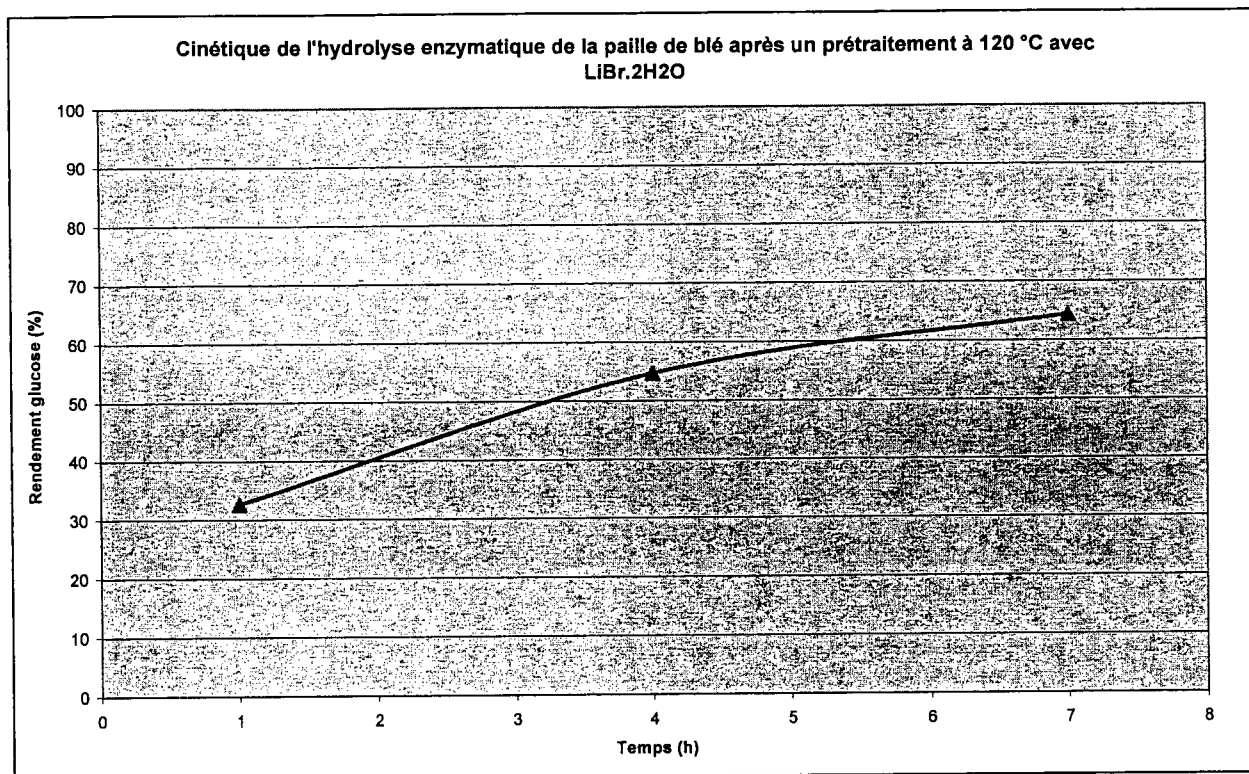


Figure 4

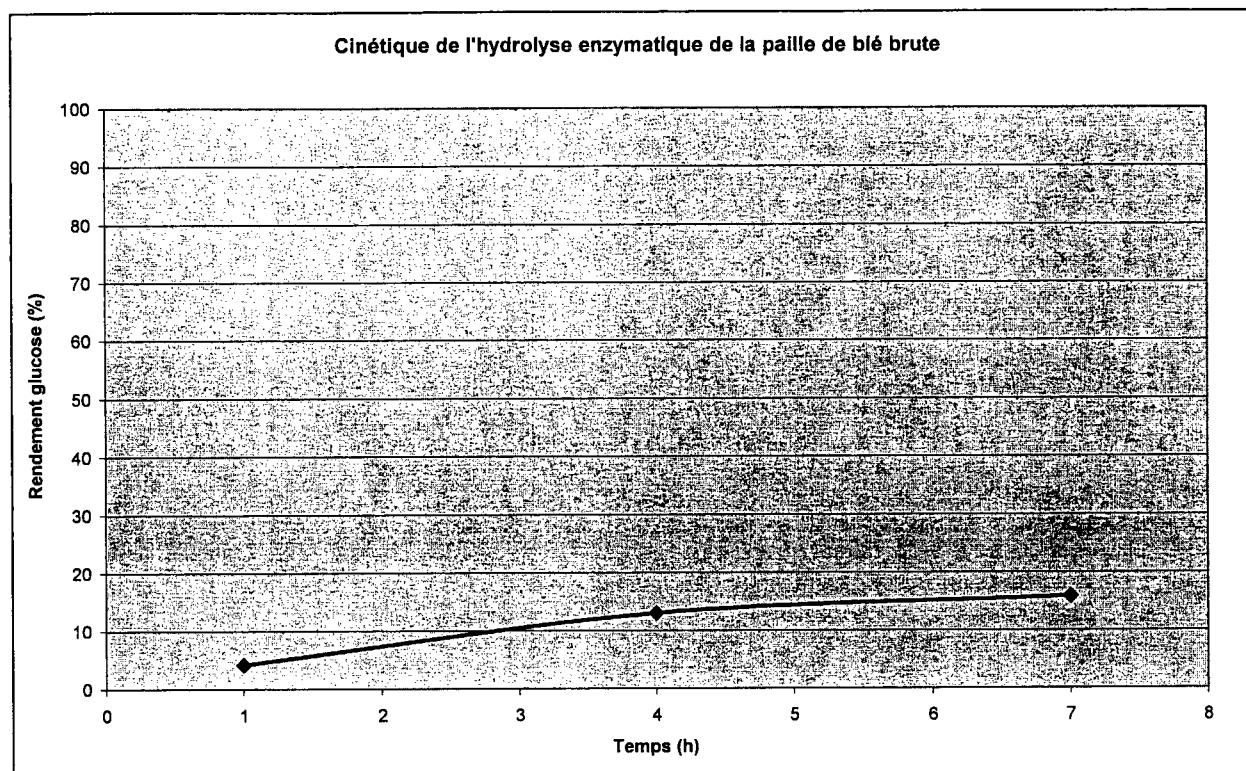


Figure 5

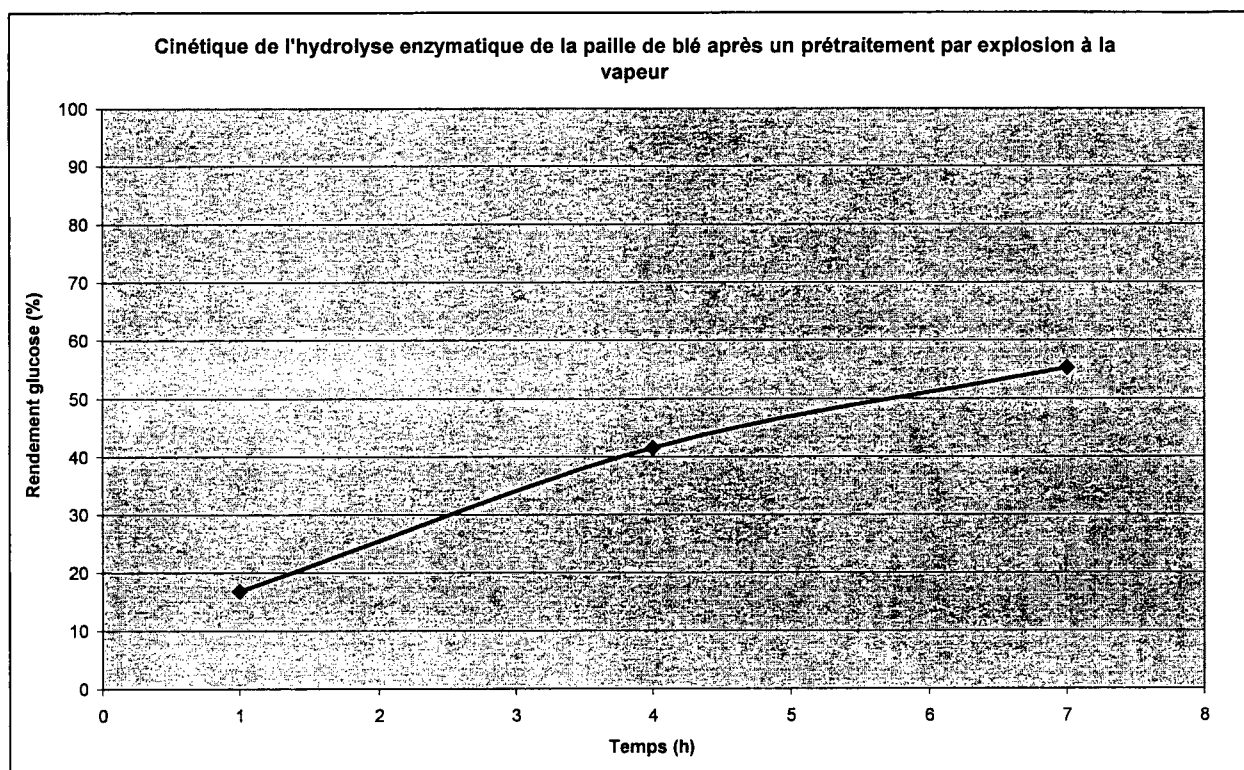


Figure 6