



Bioéthanol de seconde génération : les facteurs limitants...

Ph. Thonart, I. Diddenen, V. Lechien, S. Hiligsmann, J. Destain, L. Beckers, J. Masset, C. Hamilton

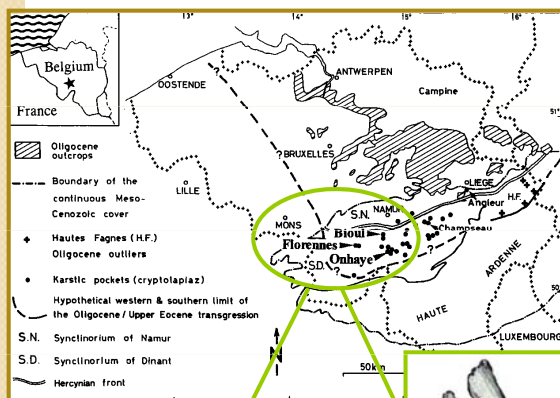


1

Introduction



2



Il était une fois ...

Localisation des karsts
de l'Entre-Sambre-et-
Meuse (Belgique)

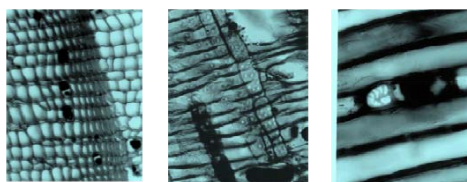


Site de Florennes : bois fossiles contenant 25 % cellulose
(De Putter et al., 1994)

3



Caractérisation paléobotanique



Xylothèque	Espèce fossile identifiée	Espèce actuelle associée
AN, DU, Onh, H, KE, Florennes	<i>Juniperoxylon pachyderma</i> / <i>Taxodioxylon gypsaceum</i>	<i>Metasequoia</i>
Lampernisse	<i>Pinuxylon</i>	<i>Pinus sylvestris</i>
Maasmmechelen	<i>Piceoxylon pseudotsuga</i>	<i>Pseudotsuga menziesii</i>
Sint Odiliënberg	<i>Quercus robur</i>	<i>Quercus Robur</i>

Mode de fossilisation : **Turbification**

⇒ Points de comparaison pour les futures analyses

4

Etude des conditions naturelles de fossilisation

Conditions particulières d'ensevelissement ?

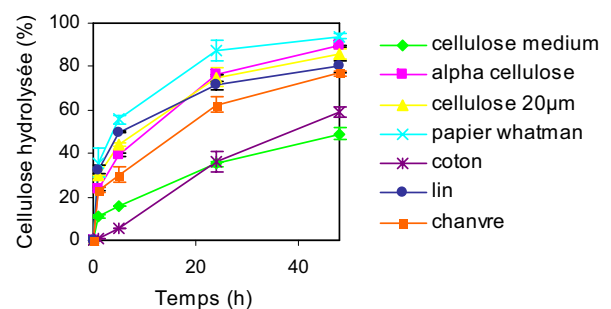
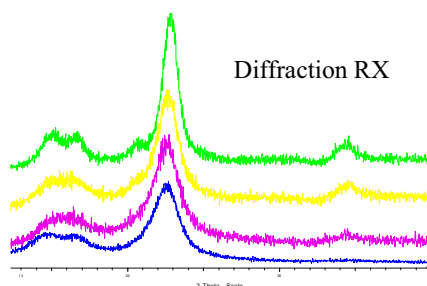
Paramètres relatifs aux sédiments hôtes	Conclusions
Perméabilité	Sols suffisamment imperméables pour la préservation MAIS circulation d'eau présente
Acidité	Activité des microorganismes favorisée
Taux d'humidité	Bonnes conditions de biodégradation de la matière organique
Potentiel d'oxydoréduction	
Activité microbienne du sol	
Composition minérale des sols	Possibilité de minéralisation des bois MAIS impossible à confirmer

La matrice d'enfouissement n'est pas à l'origine de la préservation de la cellulose

5

La cellulose - Cristallinité & paramètres associés

Celluloses I



Détermination du degré de cristallinité

Réseau cristallin de type I

Crl des celluloses commerciales : 82-94 %

Crl des fibres végétales : 74-82 %

Détermination de la biodisponibilité

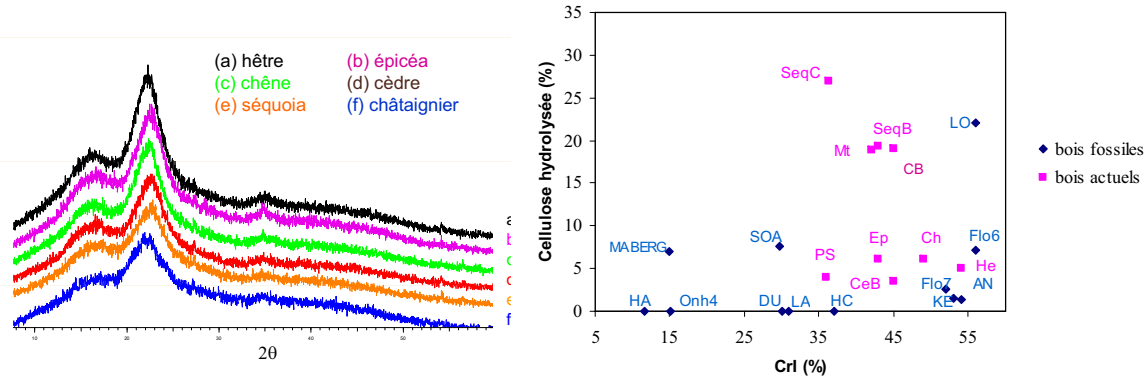
Plus la cristallinité augmente, plus le taux d'hydrolyse de la cellulose diminue (cas des poudres commerciales)

Bioaccessibilité = $f(\text{Crl})$ pour les poudres commerciales
Bioaccessibilité $\neq f(\text{Crl})$ pour les fibres végétales

6

La cellulose - Cristallinité & paramètres associés

Bois actuels & fossiles



Détermination du degré de cristallinité

Réseau cristallin de type I
 CrI des bois actuels : 36-54 %
 CrI des bois fossiles : 15-56 %

Détermination de la biodisponibilité

Aucune tendance concernant le lien entre la digestibilité des celluloses des bois et sa cristallinité

Bioaccessibilité = f(cristallinité) ?

7

La cellulose – Morphologie des fibres

Systèmes lignocellulosiques

Stratégie : réduction de la surface spécifique de systèmes lignocellulosiques par broyage et mise en relation avec leur digestibilité

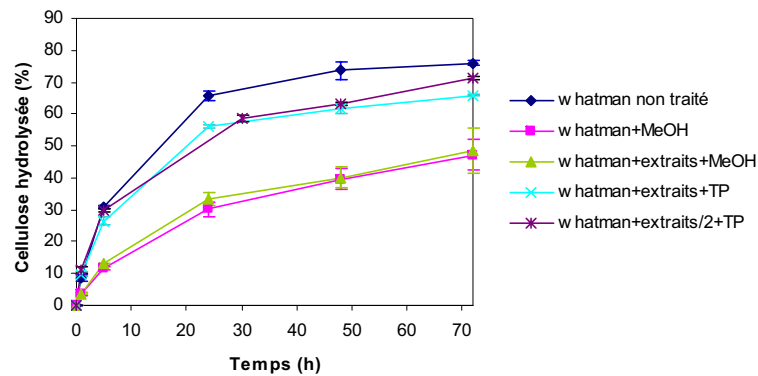
	Test ECD de 48 h Taux d'hydrolyse de la cellulose (%)	
	Etat d'origine	Broyage
Metasequoia	8	19
Florennes	0	2
Onhaye	0	1

Bioaccessibilité = f(surface spécifique) ?

8

Les composés extractibles

Inhibition de l'activité enzymatique par des extraits de bois



○ Inhibition de la dégradation de la cellulose par les extraits du bois fossile de Florennes (5-10 %)

○ Pas de différence entre les extraits de *Metasequoia* et de bois fossile

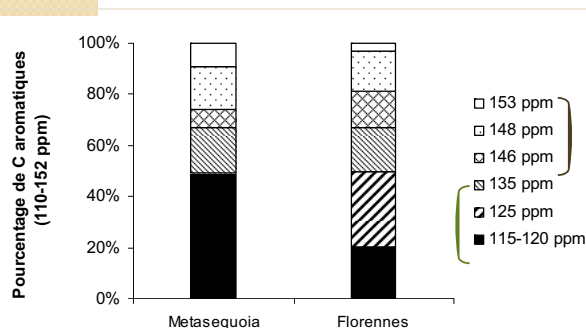
Biodégradabilité ≠ f(teneur en extraits)

9

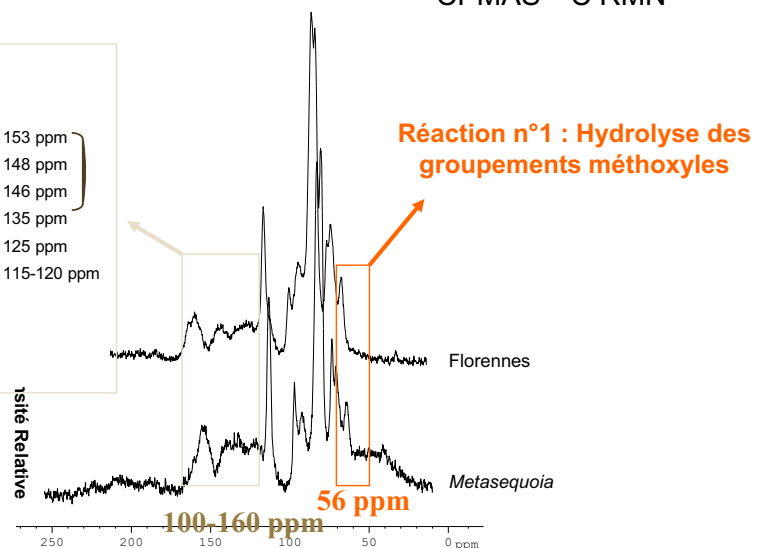
La lignine

Caractérisation de la structure ligneuse

Structure générale



Spectres
CPMAS ¹³C RMN



Réaction n°2 : Clivage des liens b-O-4'

Réaction n°3 : Alkylation des structures catéchols

3 principales transformations chimiques

10

Substrat de seconde génération

= substrat non issus de culture destinée à l'alimentation

Matière ligno-cellulosique

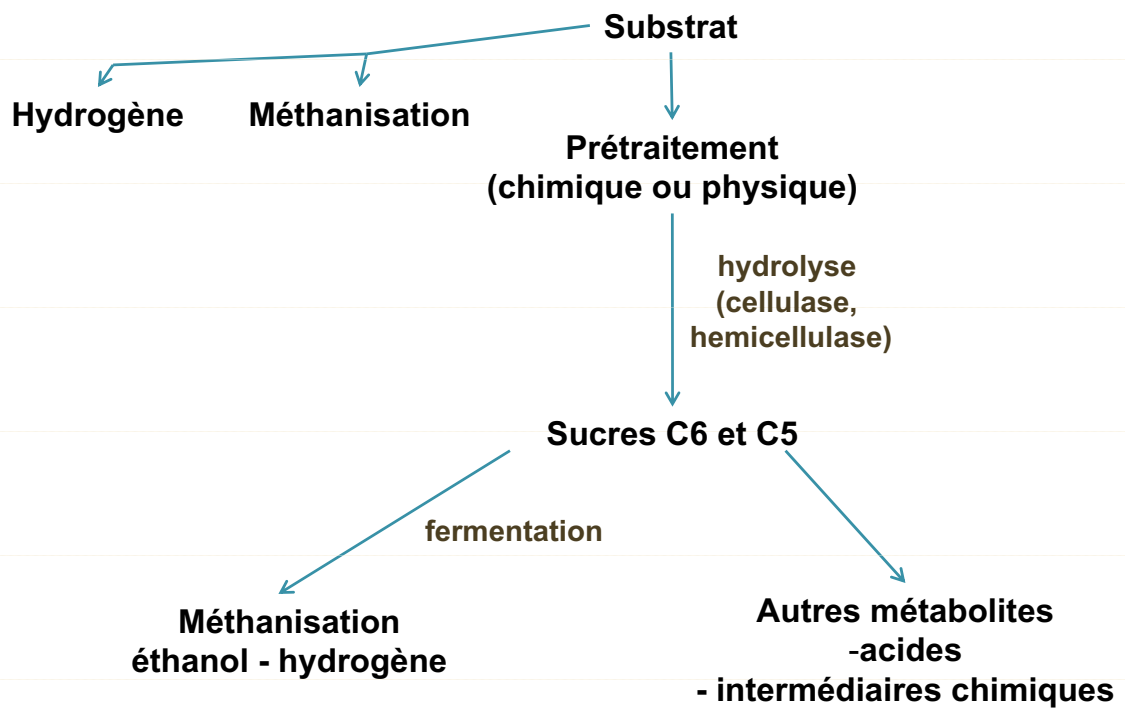
11

Composition de différentes matières premières lignocellulosiques en % de matière sèche.

	<i>Cellulose</i>	<i>Hémicellulose</i>	<i>Lignine</i>
<i>Feuillus</i>	35 – 40	25 – 30	27 – 30
Bouleau	40	39	21
Saule	37	23	21
Peuplier	45 - 50	24 - 29	16 - 25
<i>Résineux</i>	45 – 50	20 – 25	20 – 25
Epicéa	43	26	29
Pin	44	26	29
<i>Paille de froment</i>	30 – 50	21 – 35	15 – 29
<i>Herbe</i>	31 – 45	24 – 30	12 – 18
<i>Miscanthus</i>	38	24	26

12

La biotechnologie et des substrats de 2^{ème} génération



13

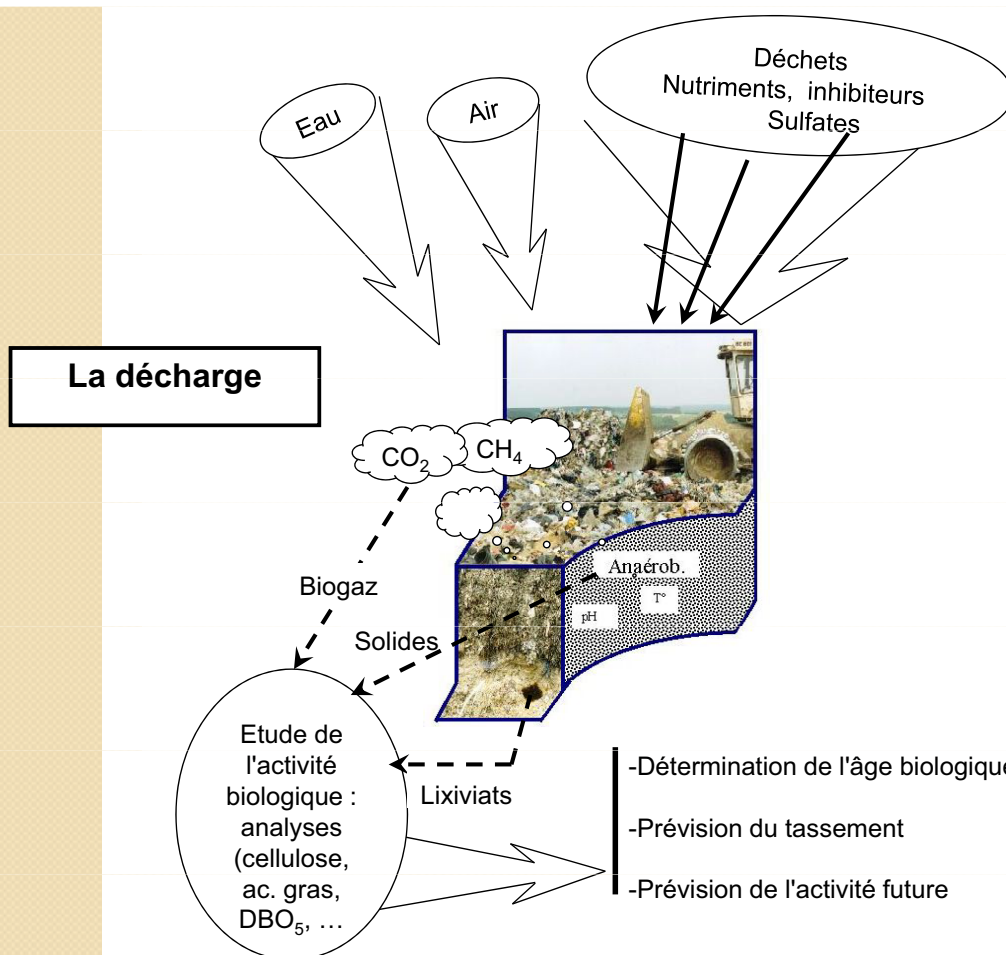
Les CET : 1^{ère} application industrielle des substrats de 2^{ème} génération

Transformation de la cellulose en méthane



Décharge de Dakar

14



15

L'atlas des décharges d'ordures ménagères dans les pays en développement

<http://www.ulg.ac.be/cwbi/index.htm>

But:

Collecter et diffuser toutes les informations disponibles sur les dépôts d'ordures ménagères dans les pays en développement

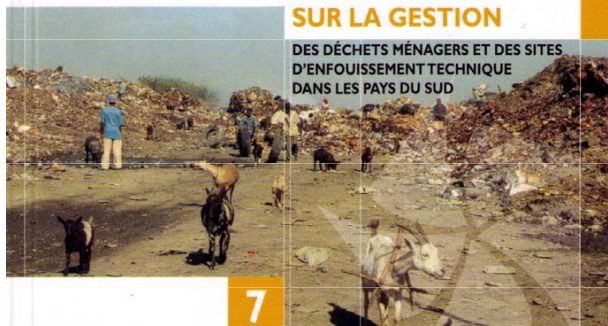
Pourquoi:

- Pour garder en mémoire la **localisation** et la **caractérisation** de ces sites
- Pour faciliter leur **réhabilitation**

16

Sous la direction de
Philippe Thonart et
Sory Ibrahim Diabaté

GUIDE PRATIQUE SUR LA GESTION



COLLECTION **POINTS DE REPÈRE**



Les publications de l'IEPF

La gestion biologique des décharges

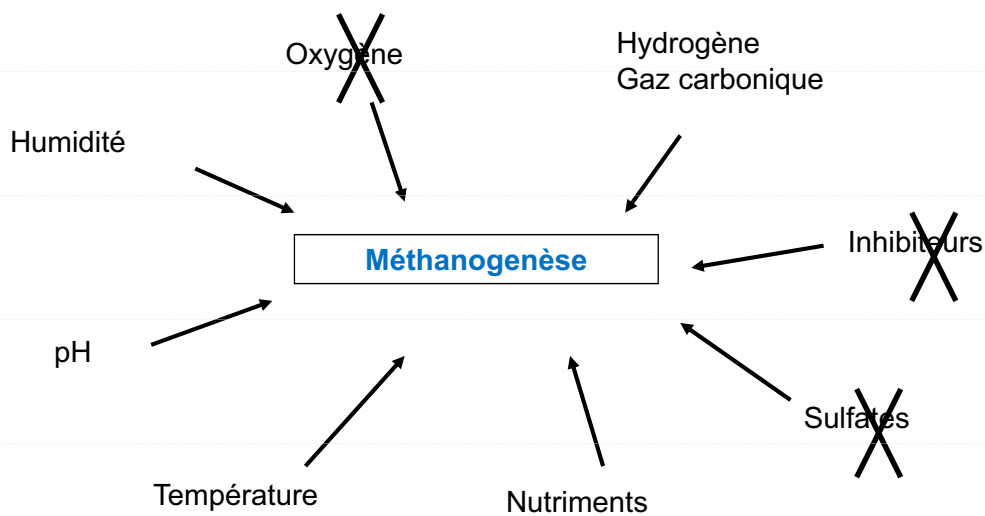
Caractérisation des décharges:



Comparaison bioréacteur - décharge classique

Critères	Bioréacteur	Décharge
Matières premières	- substrat établi comme optimum par rapport au micro-organisme donné	- substrat très variable
Microorganisme	- micro-organisme choisi en fonction de la production - le milieu est déterminé en fonction du micro-organisme	- population microbienne complexe déterminée par la nature du milieu
Paramètres (pH, t°, aération)	- régulés	- évolution naturelle rem : pas d'aération ni d'agitation
Produits finaux	- biomasse + milieu + produit	- biomasse + lixiviats + biogaz

Les paramètres physico-chimiques intervenant dans la gestion biologique d'une décharge



19



Echantillonnage + analyses des échantillons liquides (pH, Redox, Conductivité, DCO, NH_4 , N_{tot} , Sulfates, ...)

Matériel d'analyse sur le terrain

Analyses des gaz (% CH_4 , % H_2S , % O_2 , débit, t° , ...)



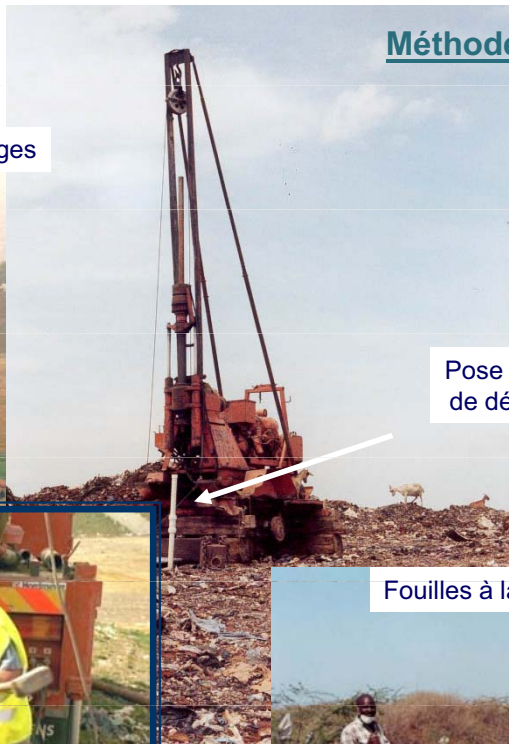
(c) CWBI, 06/2000

Méthodes d'investigation

Forages



Pose de tubes de dégazage



Fouilles à la pelle



Extraction des déchets prélevés

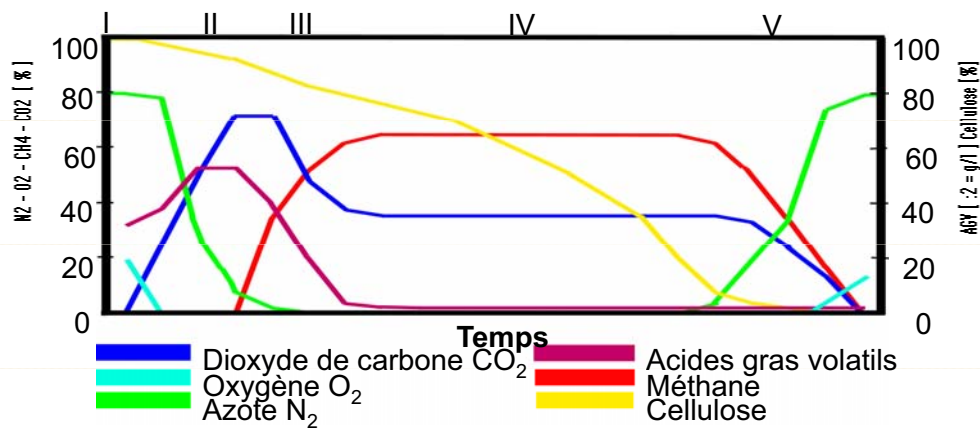


Campagnes de prélèvements d'échantillons liquides et gazeux

Fiche de suivi de la décharge de.....						Coordonnées de l'Agence Industrielle		
Date:	Heure d'arrivée:	Heure de départ:	Opérateur:					
Type de décharge (C.I.)		Vent: direction, force, fréquence		Pénombre: direction, force, fréquence		Pénombre: direction, force, fréquence		
Echantillons gazeux						Fiche FS...		
Matériau de l'échantillon	Lieu de prélèvement	Méthode de prélèvement	% H ₂ , CH ₄	% vol CH ₄	% O ₂	pH	Température	Observations (état du puits, ...)
 Gaz Gaz adsorbés Lixiviats								

(c) C/WBI 09/2000

Evolution de la composition du biogaz en fonction du temps:



Phase I: aérobie

Phase II: anaérobie non-méthanogénèse

Phase III: anaérobie méthanogénèse (transitoire)

Phase IV: anaérobie méthanogénèse (stable)

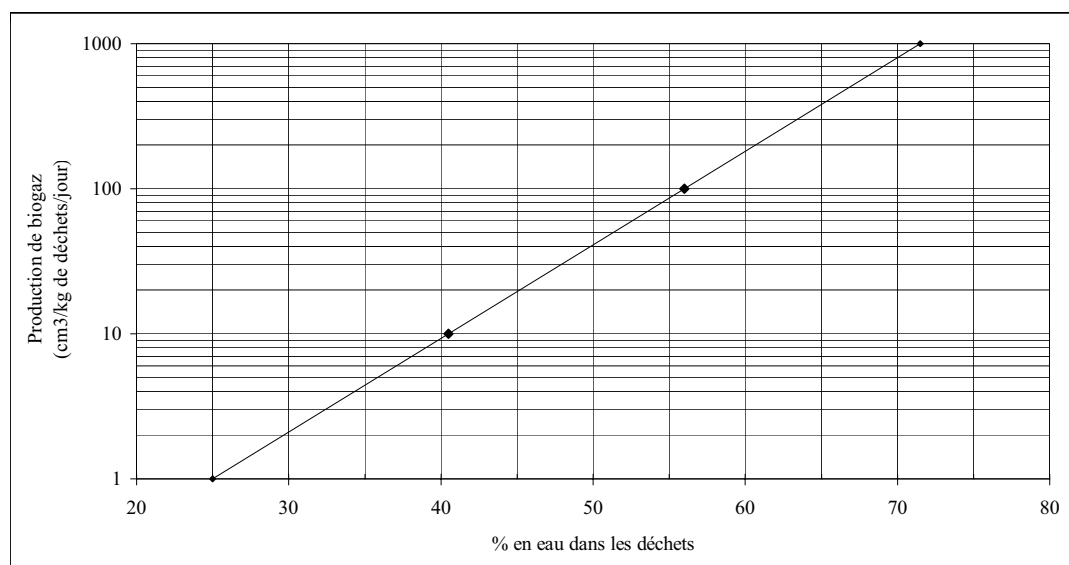
Phase V: fin de la production de gaz

0.25 à 1.5 ans

30 à 50 ans (100 ans)

23

Influence de la teneur en eau des déchets sur la productivité de biogaz

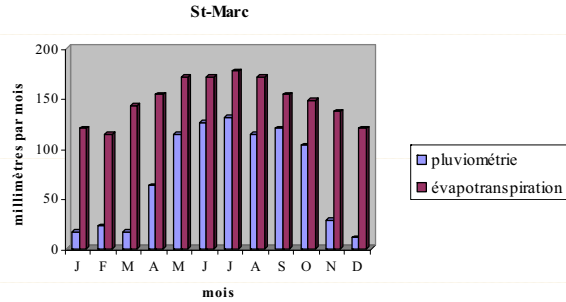


24

Etude de l'activité biologique des décharges dans les pays à climat sec (Haïti – Tunisie)

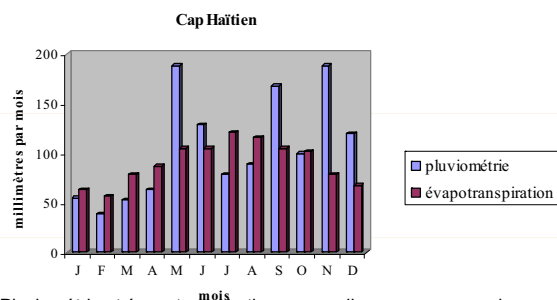
Évapotranspiration > précipitation => pas d'activité biologique

Cas de Haïti :
Etude de l'évapotranspiration
=> hypothèses sur le niveau
d'activité biologique



Pluviométrie et évapotranspiration mensuelles moyennes sur la ville de Saint-Marc. (Source Ministère de l'Environnement d'Haïti)

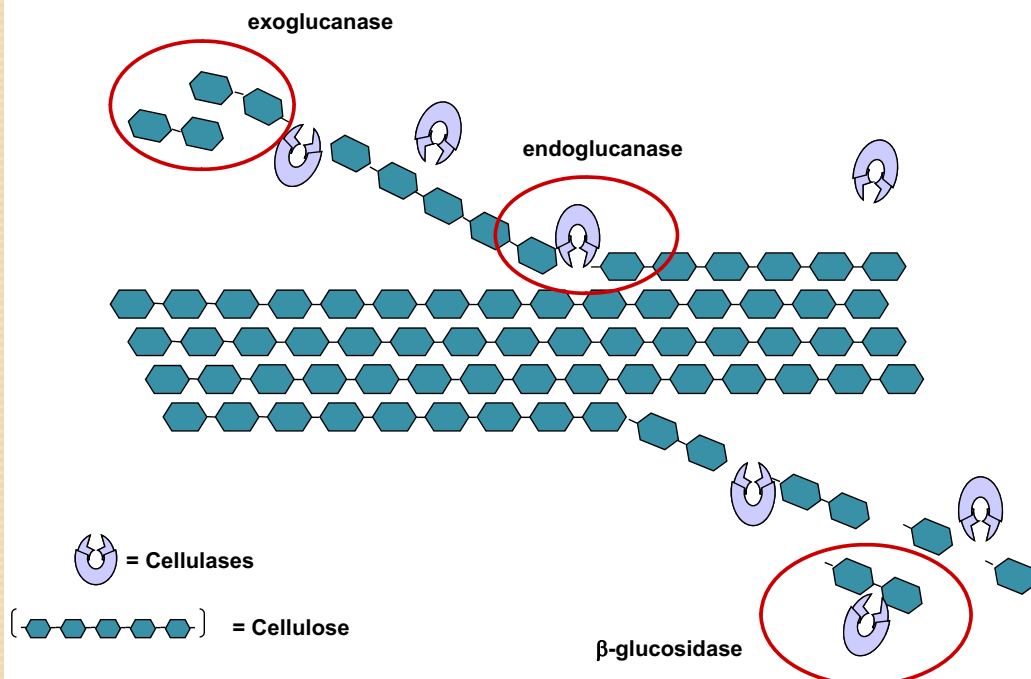
Évapotranspiration < précipitation => activité biologique faible



Pluviométrie et évapotranspiration mensuelles moyennes sur la ville du Cap Haïtien. (Source Ministère de l'Environnement d'Haïti)

25

Dégradation de la cellulose



26

Notre stratégie : test enzymatique de dégradation de la cellulose

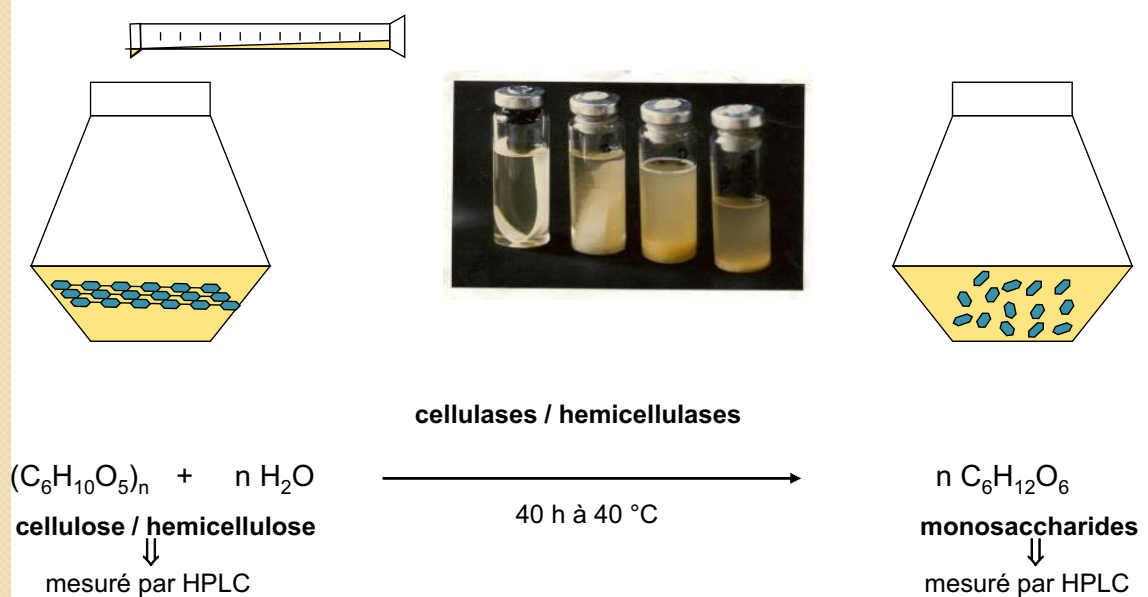
- ☞ Développement d'un test enzymatique ciblant spécifiquement la biodisponibilité de la cellulose
- ☞ Biodisponibilité = accessibilité cellulose pour microorganismes
- ☞ Test = Hydrolyse enzymatique de MSW médiée par cellulases
- ☞ Détermination de la biodisponibilité de la cellulose : pourcentage de la cellulose hydrolysée



Validation par un test de méthanisation

27

Test enzymatique de dégradation de la cellulose : mise au point



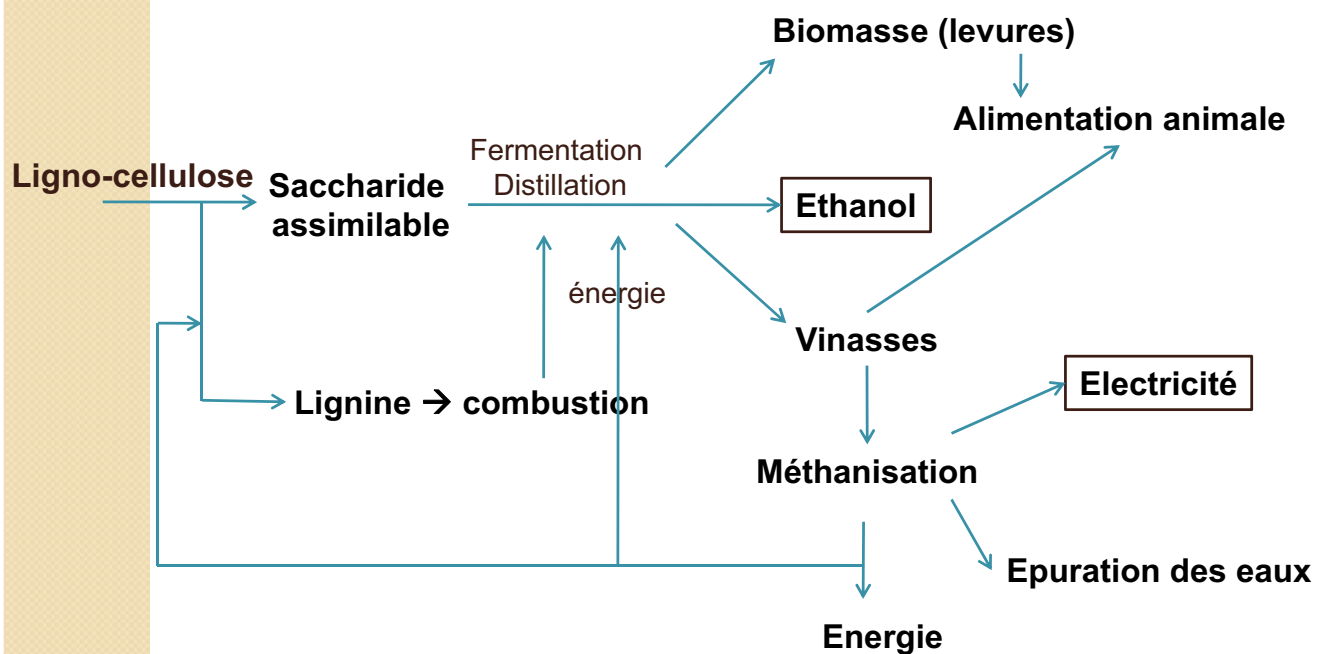
28

L'avenir du bioéthanol de seconde génération

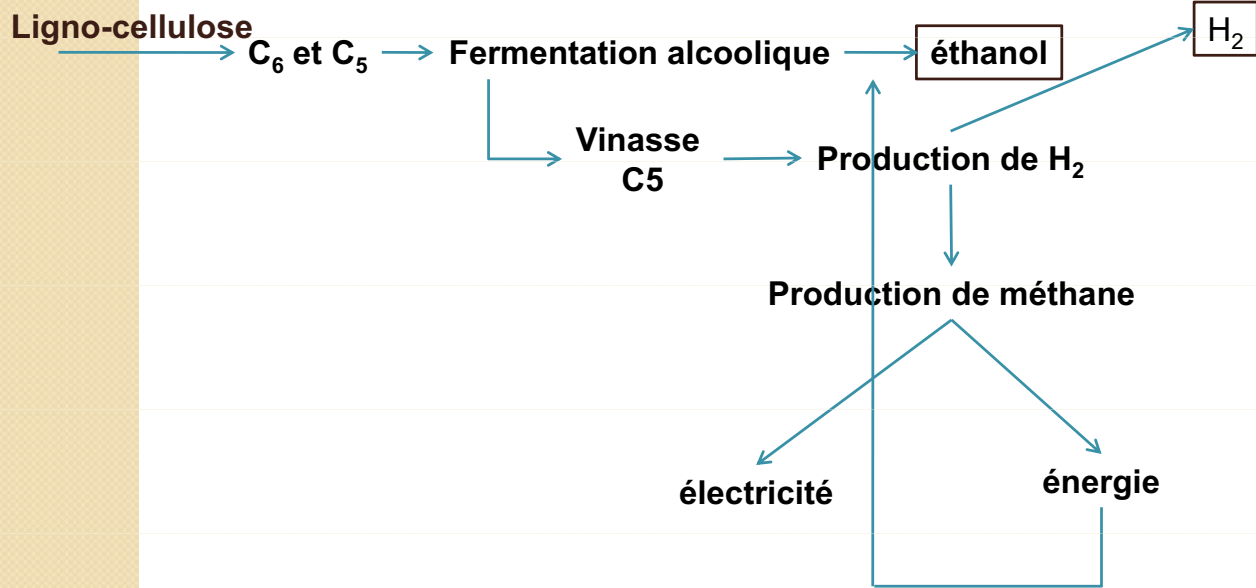
Intégrer sa production dans un procédé de valorisation complète de la biomasse ligno-cellulosique

29

Intégration des techniques



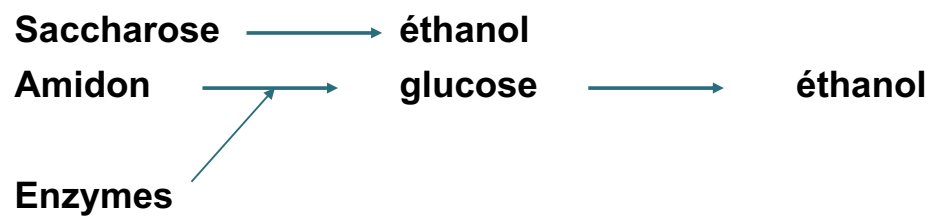
30



31

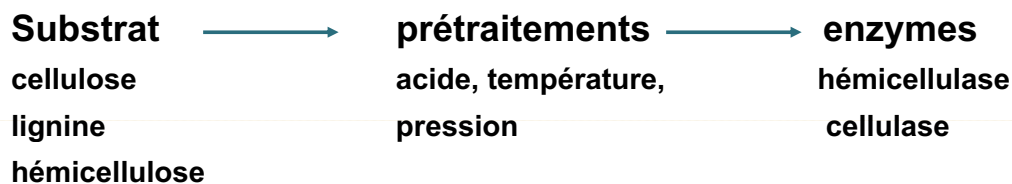
Production d'éthanol - Point de vue enzymatique

1^{ère} génération



32

2^{ème} génération : la biomasse lignocellulosique



33

Production d'éthanol

Cellulose : 2030 – 2050 – 25% des carburants

1^{ère} installation : 2015 en utilisant la bagasse (Brésil)

Prix de l'éthanol : 0,37 – 0,43 euro/litre (2015)

Prix de l'enzyme : 0,5 USD/gallon

34

Les unités de production d'enzymes seront situées près des usines de production d'éthanol (intégration verticale)

Les problèmes :

1. Inhibiteurs des enzymes

2. Eviter les infections

3. Fermentation des C5

4. Dosage de la levure

5. Traitement du résidu

Les avantages de la biotechnologie :

- spécificité des réactions pour le substrat et le produit**
- conservation de l'énergie. Le rendement énergétique est proche de 95%**

Les applications de la biotechnologie :

- **Énergétiques (éthanol, CH₄, H₂, électricité)**
- **Biofaçonnement (potentialités de transformation) par exemple : glycérol en matière grasse.**

Les applications énergétiques de la biotechnologie :

- **l'éthanol**
- **le méthane**
- **l'hydrogène**
- **“Microbial fuel cells”**

Éthanol

techniquement au point avec :

- le saccharose

- l'amidon

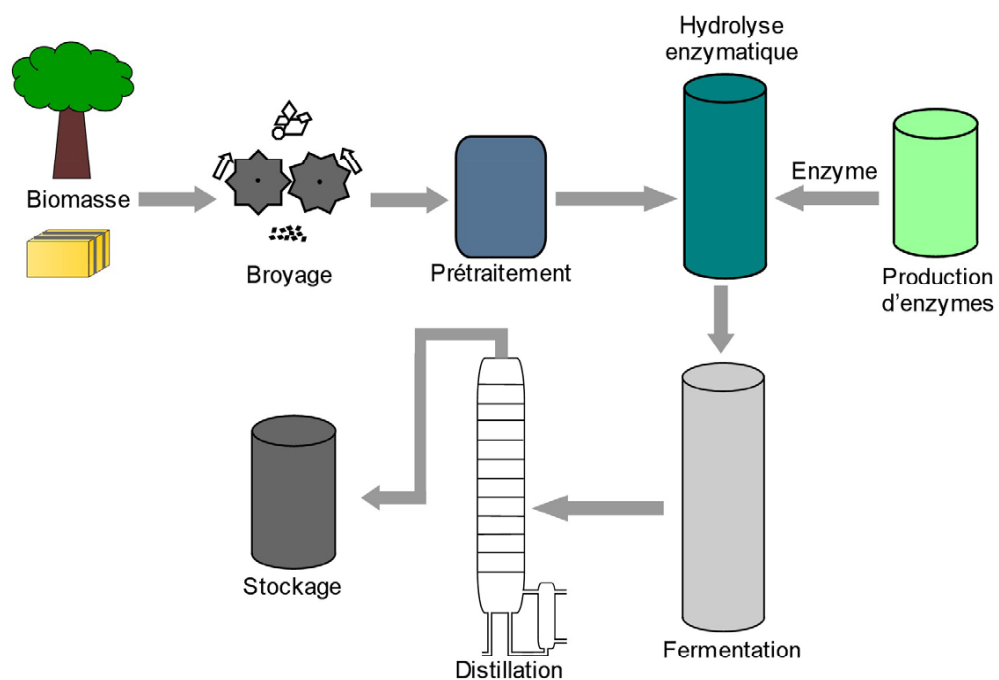
à améliorer avec :

- la cellulose

- les sucres en C5 (xylose)

- le glycérol

Schéma de production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique



Prétraitements

- **Hydrolyse acide (dilué ou concentré)**
 - Acides: H_2SO_4 , HCl , etc.
 - Bon rendement de saccharification
- **Thermohydrolyse**
 - Pas de produit chimique (eau à 190-250°C et >25 bars)
 - Très bon rendement d'hydrolyse

Prétraitements

- **Explosion à la vapeur**
 - Vapeur (160-290°C et 0,5-25 bars)
 - Hydrolyse de l'hémicellulose faible (30 à 50 %)
- **Prétraitement alcalin**
 - Bases: CaOH_2 , NaOH , KOH , NH_4OH
 - Durée de traitement longue

Production d'éthanol à partir de divers produits agricoles et forestiers

Matière première	t/ha	EtOH (l/t)	EtOH (hl/ha)
Betterave	60-70	90-100	54-70
Canne à sucre	70-80	80-90	56-72
Maïs	10-12	360-400	36-48
Blé	8-9	320-370	25-33
Orge	6-8	310-350	18-28
Sorgho (grain)	4-5	330-370	13-18
Pomme de terre	24-26	100-120	24-31
Manioc	15-20	175-190	26-38
Bois de feuillus	9-15	400-440	36-66
Bois de résineux	9-15	450-480	40-72
Paille	5-6	440-480	22-29

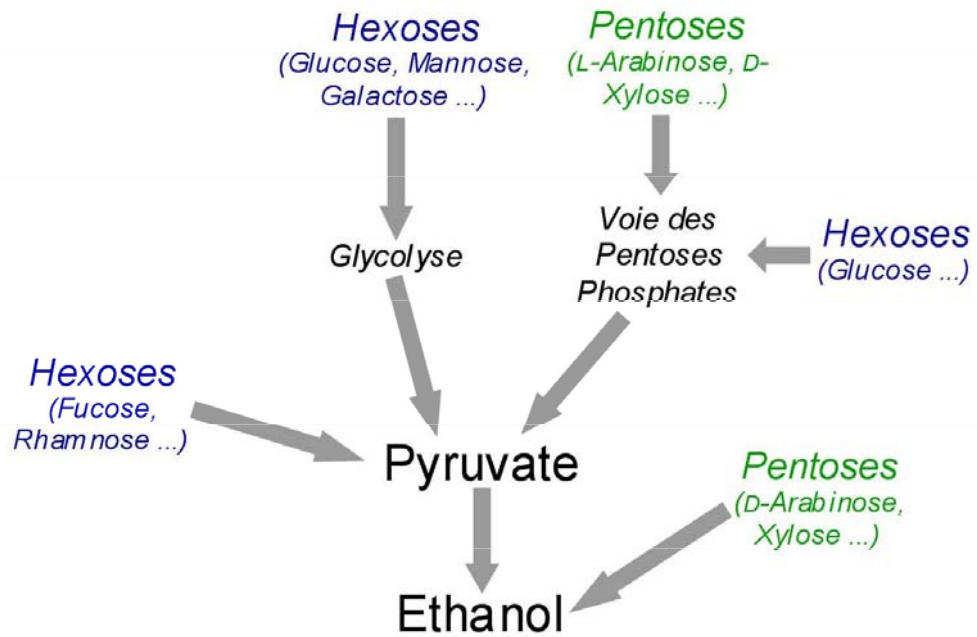
Nécessité de :

- Fermenter les pentoses :

augmentation des rendements de fermentation de 100 litres/tonne de MS suivant la biomasse utilisée.

- Trouver des micro-organismes fermentant C5 & C6.

Voies de transformation



Voies de transformation

- **Glucose → 2 Éthanol + 2 CO₂**
 - Rendement: 0,48 g/g glucose
 - Microorganismes: *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* ...
- **Xylose → Éthanol + CO₂ + Acétate**
 - Rendement: 0,28 – 0,48 g/g xylose
 - Microorganismes: *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae*, *Pichia stipitis* ...

L'avenir :

- **Améliorer la récupération de l'éthanol (peut-être par les techniques de membranes, la pervaporation)**
- **Mieux valoriser les sous-produits**
- **Utiliser de nouveaux substrats**

Méthanisation : technologie au point : (cfr éthanol)

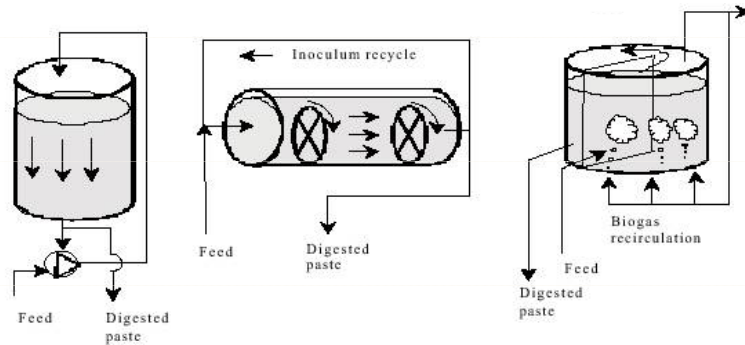
- **procédés en phase liquide (< 15% MS)
ou en phase sèche (20 - 50 % MS)**
- **procédés mésophiles (30 – 40°C)
ou thermophiles (50 – 60°C)**
- **importance de la biomasse : 1kWh_e / kg DCO**

Biométhanisation en phase sèche

Procédés : Dranco

Kompogas et BRV

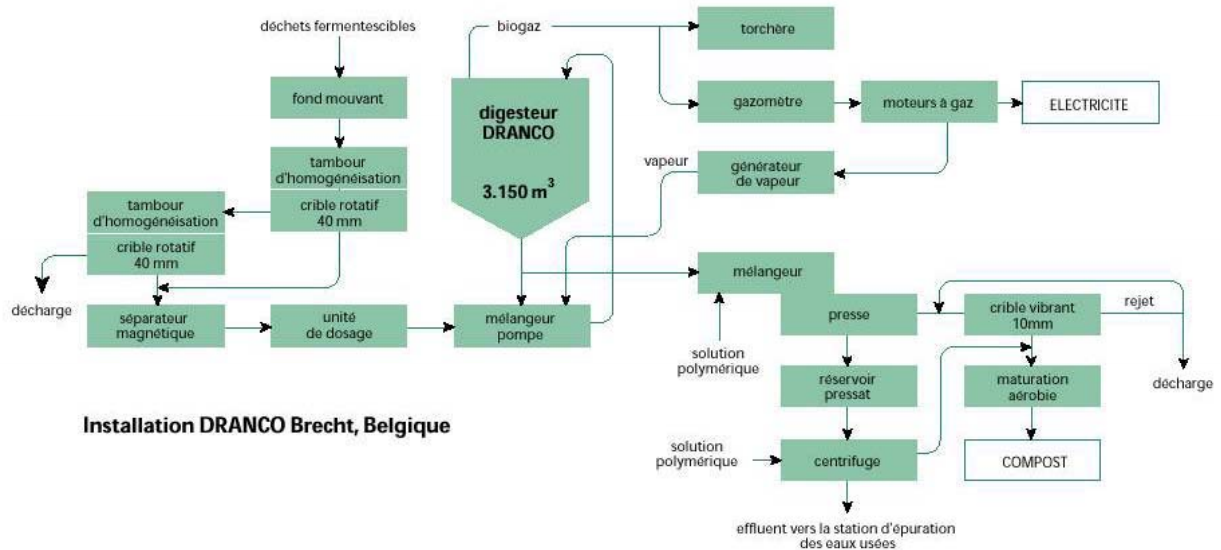
Valorga



53 grandes installations en Europe traitant

- 10 000 à 50 000 tonnes de biomasse / année
- Input : 5 - 25 kg de DCO / m³ . j
- 10 – 20 jours de temps de rétention, C/N > 20
- 50 – 70 % de conversion de DCO
- Output : 1 - 8 m³ de CH₄ / m³ . j

Procédé Dranco



Installation DRANCO Brecht, Belgique

Liste de références d'installations Dranco

Ville, pays	Capacité (tonnes/an)	Déchets	Année
Installations industrielles			
Brecht I, Belgique	20.000	déchets fermentescibles/déchets de papiers	1992
Salzbourg, Autriche	20.000	déchets fermentescibles	1993
Bassum, Allemagne	13.500	déchets gris	1997
Aarberg, Suisse	11.000	déchets fermentescibles	1998
Kaiserslautern, Allemagne	20.000	déchets gris	1999
Villeneuve, Suisse	10.000	déchets fermentescibles	1999
Brecht II, Belgique	50.000	déchets fermentescibles/déchets de papiers	2000
Alicante, Espagne	30.000	déchets mixtes	2002
Rome, Italie	40.000	déchets mixtes	2002
Installations de démonstration			
Gand, Belgique		déchets mixtes / fermentescibles	1984
Bogor, Indonésie		déchets de marchés	1986
Florida, Etats Unis		déchets mixtes	1989
Graz, Autriche		déchets mixtes	1990
Kagoshima, Japon		fumier / déchets organiques	1998
Yaku Island, Japon		fumier / déchets organiques	2001

Méthane

Fermentation liquide en continu (classique)

1 kg de COD par m³ par jour

1 m³ de méthane – **1 kg** de biomasse par m³

Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor

- **10 - 20 kg** de COD par m³
- **0,5 - 1KW/m³** (rendement supérieur à 35%)

Production d'hydrogène à partir de biomasse

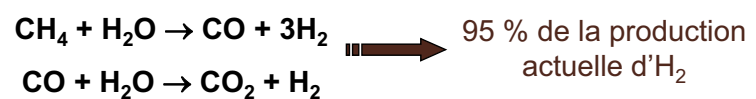
Enjeux :

- réduire les émissions de CO₂
- diminuer la consommation des combustibles fossiles
- exploiter au mieux les déchets
- augmenter les rendements d'utilisation des sources d'énergie

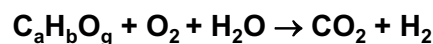
 **L'hydrogène :
Vecteur énergétique du futur ?**

La production d'hydrogène :

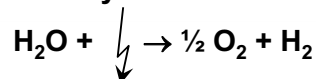
- Steam Reforming du méthane (200 °C)



- Oxydation partielle des hydrocarbures
- Gaséification du charbon ou biomasse



- Electrolyse de l'eau



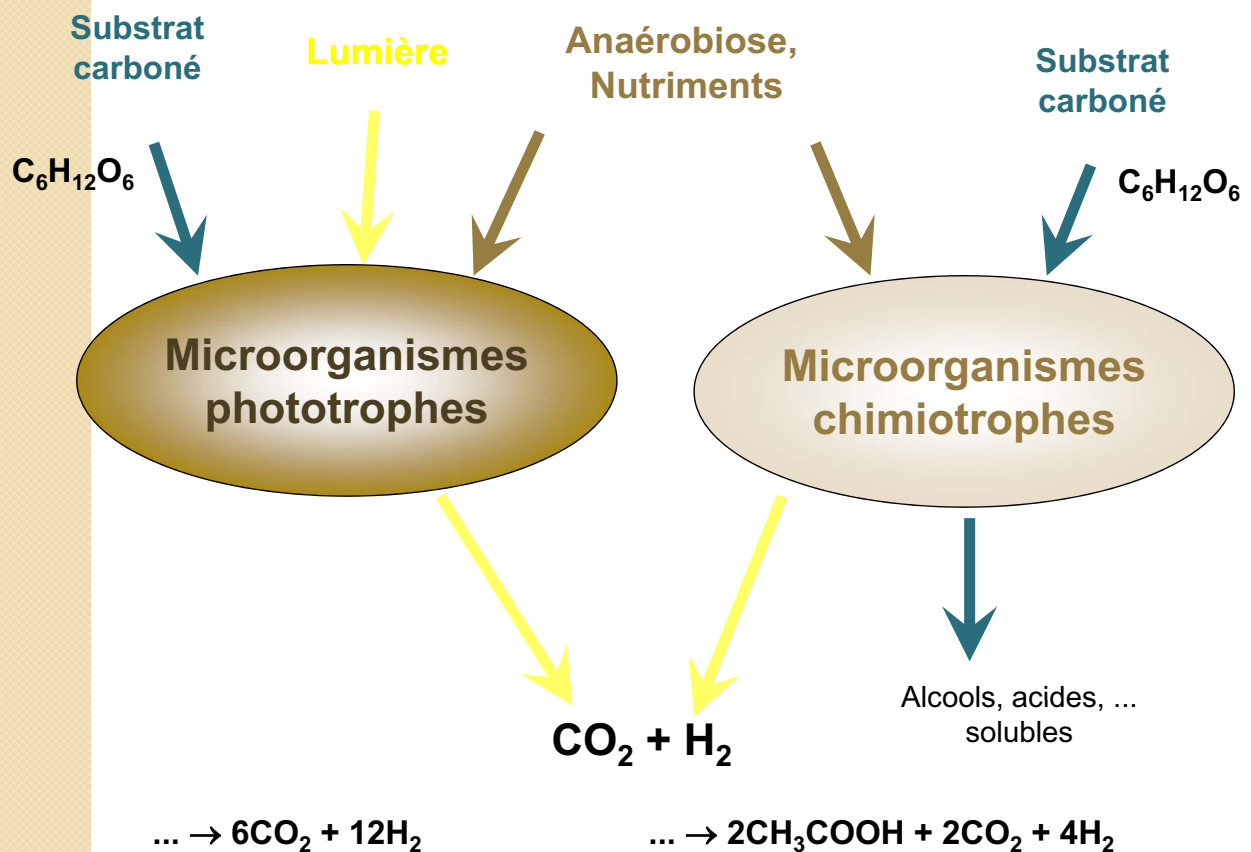
- Voie microbologique

La production microbiologique de l'hydrogène

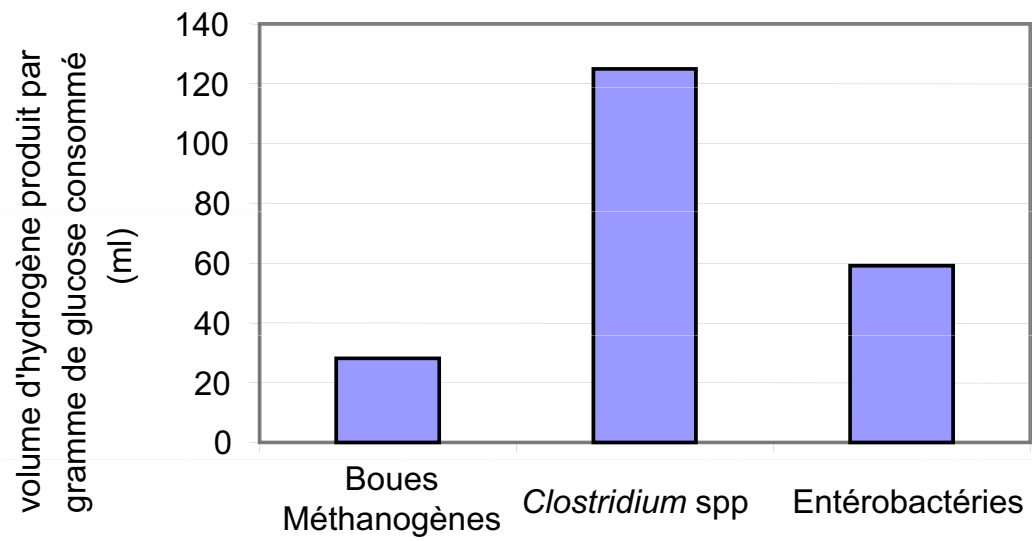
Clostridium, Ruminococcus, Aeromonas, Bacillus, Escherichia, Chlorobium, Rhodospirillum, Chromatium, ...

Microorganismes :

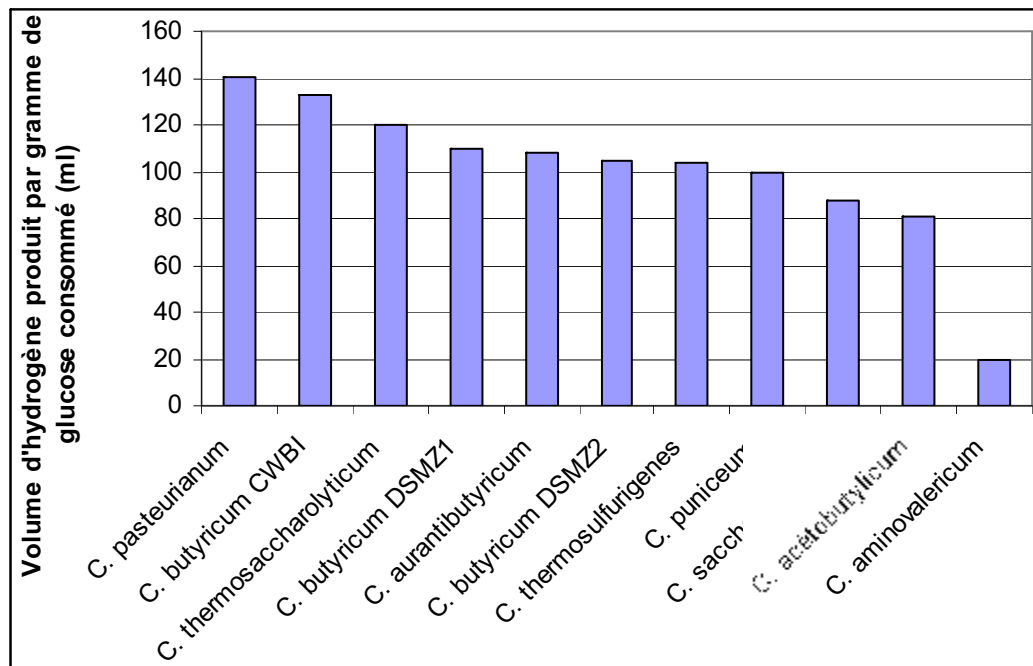
- Bactéries
 - Algues
-
- phototrophes
 - chimiotrophes

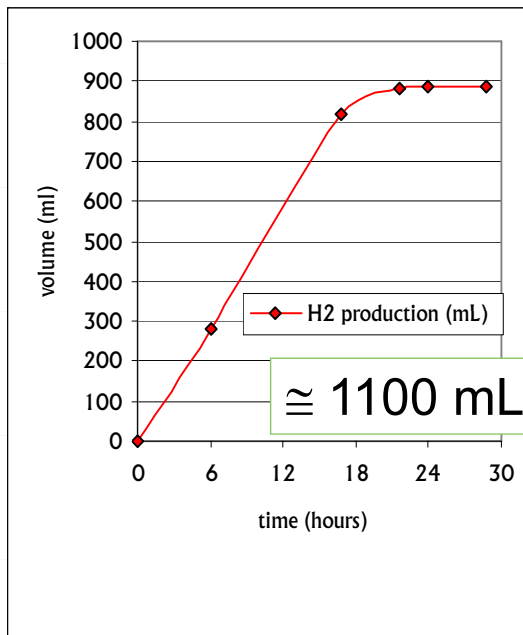


Choix des souches bactériennes



Choix des souches de Clostridium



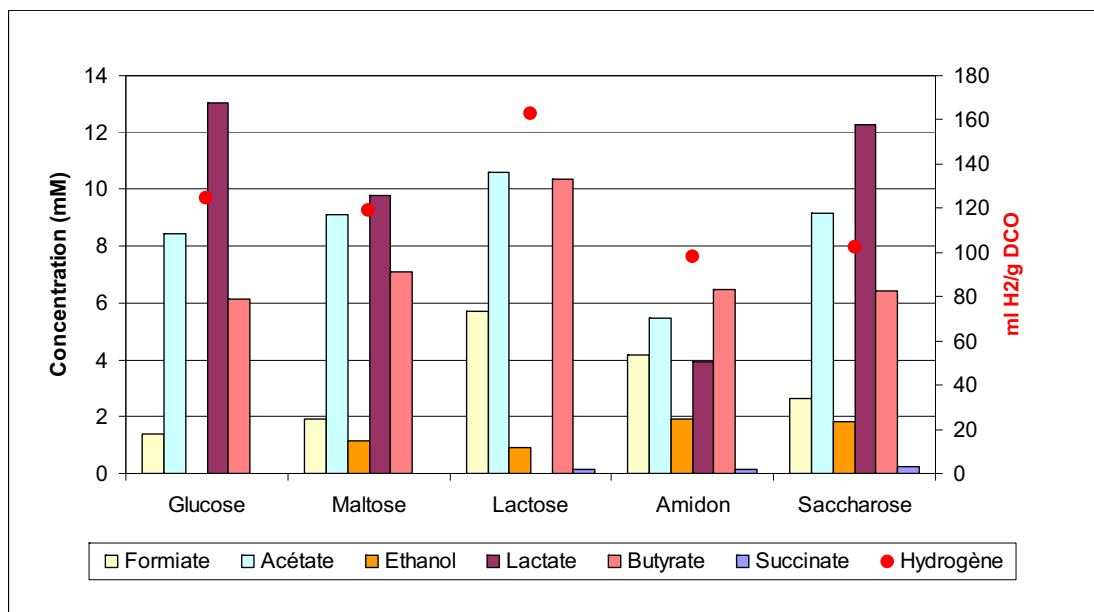


Rendements connus

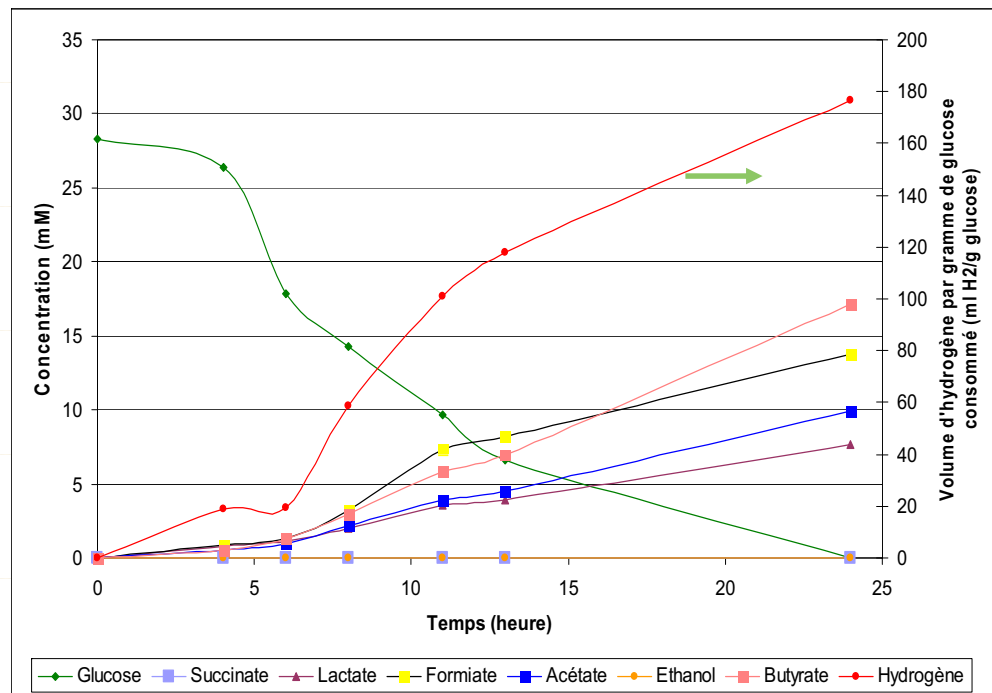
- 70 à 250 mL H₂/g de glucose
- 3 à 12 L H₂/L.j

Production d'hydrogène à partir d'un substrat carbohydraté par une bactérie en culture discontinue

Diversité des substrats carbonés

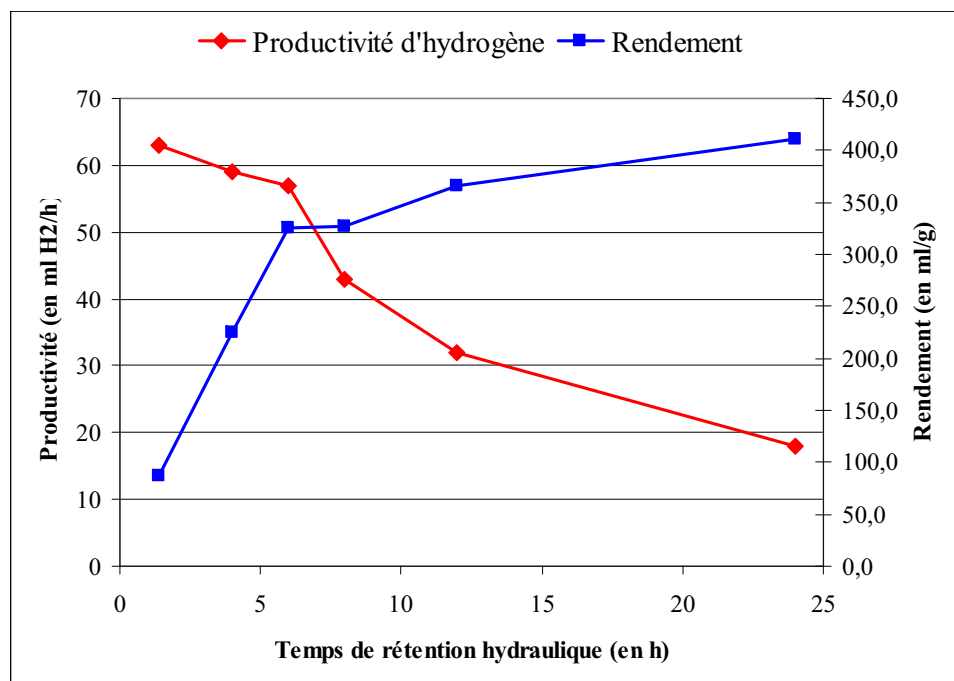


Production d'H₂ en bioréacteur



Bioréacteur continu

Productivité et rendement de conversion en fonction du TRH



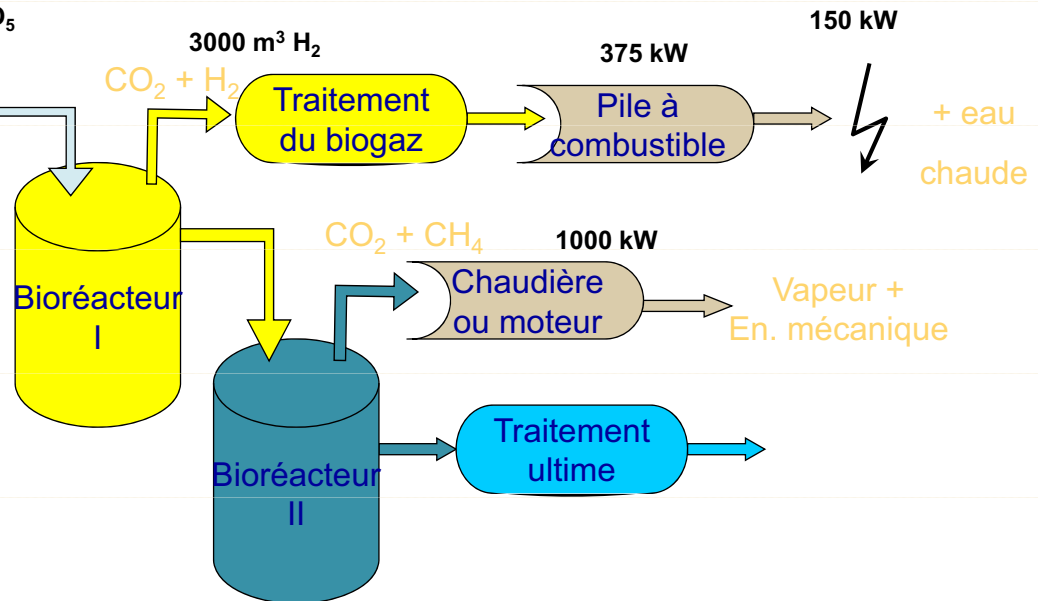
Le procédé biotechnologique

Brasserie Jupiler :

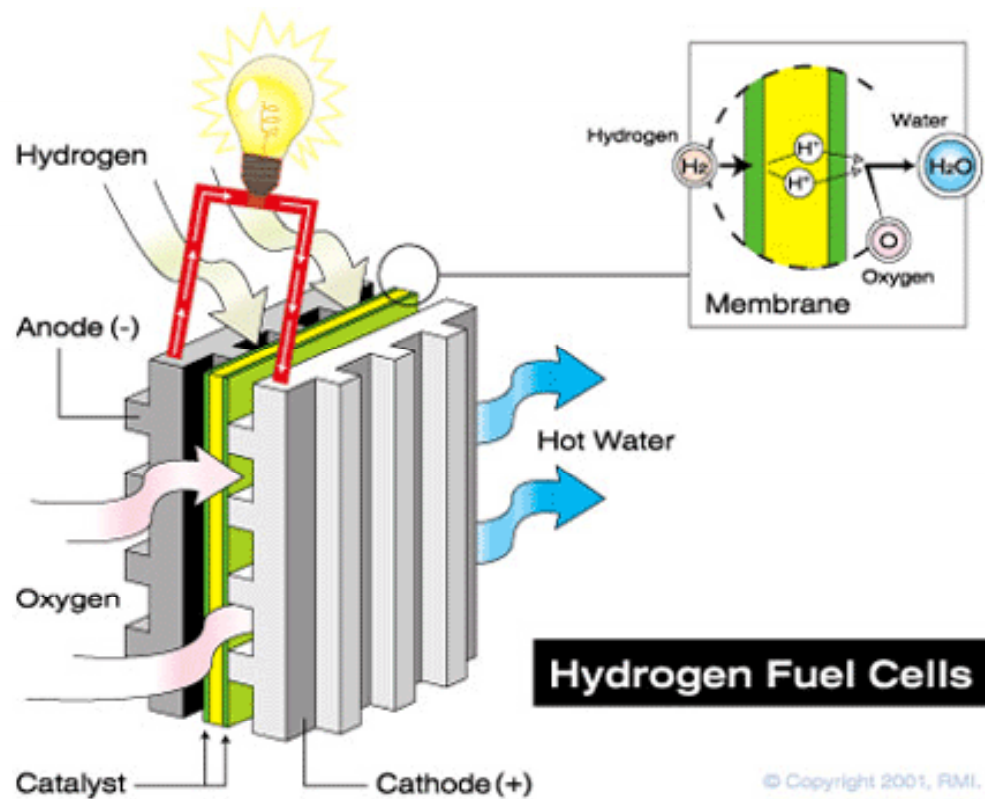
10 000 m³/j eaux

1400 mg/L DBO₅

**Biomasse
résiduaire
ind. agro-
aliment.**



Le procédé biotechnologique



Optimalisation du procédé CWBI-CIOR-LASSC

- sélection des souches : bactéries, *Clostridium* sp isolée au CWBI
- choix des substrats : substrat résiduel et réduction des coûts
- paramètres physico-chimiques : température, pH, concentration en substrat et métabolites, substrat azoté,...
- mode de culture : régulation, discontinu, continu, ...
- design du bioréacteur : cuve agitée, lit fixe, ...
- scale-up : 250 mL, 2L, 15L, 650L
- essais prometteurs des périphériques et modélisation :
alimentation directe d'une pile à combustible PEM (600 mW) avec le biogaz, biométhanisation à partir des effluents liquides provenant du bioréacteur produisant le biohydrogène

Objectif réaliste :
70L H₂/kg DCO.h
8,4 L H₂/L.j

Installations pilotes du CWBI - CIOR



Le biofaçonnement

- Production de métabolites à partir de substrats carbonés

- acide lactique, fumarique, malique...
- acides aminés
- alcools, aldéhydes
- enzymes
- antibiotiques
- triglycérides – acides gras

Quantité de sucre nécessaire à la production des produits à fort tonnage par voie biotechnologique

	Marché (1000 T)	Kg sucre/kg produit	Sucre nécessaire (1 000 T)
Lysine	50	3	150
Pou*	1 200	2	2 400
Enzymes	7	5-10	500
Antibiotiques	25	10-12	250
Levure boulangère	400	2	800
Glutamique	300	1.5	<u>450</u>
			4550

* protéines d'origines unicellulaires

Teneur en matière grasse de divers microorganismes

Levures	Teneur maximale en huile (%)
<i>Candida 107</i>	41
<i>Lipomyces lipofer</i>	40
<i>Lipomyces starkeyi</i>	38 et 65
<i>Rhodotorula gracilis</i>	60, 66 et 74
Champignons	Teneur maximale en huile (%)
<i>Aspergillus achraceus</i>	48
<i>Aspergillus terreus</i>	51 et 57
<i>Fusarium moniliforme</i>	45
<i>Mortierella vinacea</i>	66
<i>Penicillium lilacium</i>	56
<i>Penicillium spinulosum</i>	64

Relation agriculture - Biotechnologie

- Production directement ou indirectement des substrats bioassimilables

Améliorer l'accessibilité

Hémicellulose $\longrightarrow$ C₆ et C₅

Pectine

Cellulose $\longrightarrow$ C₆

par voie chimique ou enzymatique

Utiliser la biodiversité pour valoriser certains monomères :

- xylose
- glycérol
- acide galacturonique

La véritable révolution

- **une douce révolution alimentaire**
 - augmentation des rendements
 - diminution de la dépendance énergétique
 - amélioration du rendement et conservation (pays en développement)
- **un défi : l'agriculture source de matière première pour l'industrie énergétique**
 - produire un substrat fermentescible
 - utiliser la spécificité de la biotechnologie et la force tranquille de la chimie