



HAL
open science

De la conversion microbienne des ressources lignocellulosiques pour la production de molécules énergétiques : verrous et perspectives

Sandrine Alfenore, Carole Molina-Jouve

► To cite this version:

Sandrine Alfenore, Carole Molina-Jouve. De la conversion microbienne des ressources lignocellulosiques pour la production de molécules énergétiques : verrous et perspectives. *Innovations Agronomiques*, 2016, 54, pp.89-104. 10.15454/1.5137738413400696E12 . hal-01602006

HAL Id: hal-01602006

<https://hal.science/hal-01602006>

Submitted on 27 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

De la conversion microbienne des ressources lignocellulosiques pour la production de molécules énergétiques : verrous et perspectives

Alfenore S.¹, Molina-Jouve C.¹

¹ LISBP, Université de Toulouse, CNRS, INRA, INSA, Toulouse, France

Correspondance : alfenore@insa-toulouse.fr

Résumé

La production de « bioénergies » représente un défi important pour réduire les impacts environnementaux liés aux combustibles fossiles et accroître l'indépendance énergétique. Cet article présente un état des lieux de la production de biocarburants (éthanol, lipides et hydrogène) par conversion de ressources lignocellulosiques par des levures ou des bactéries (conversion algale non traitée). Les étapes de prétraitements et hydrolyse nécessaires à l'obtention de substrats carbonés liquides et gazeux sont présentés et discutés. Cette revue montre les limites scientifiques et technologiques de cette conversion i.e. teneur initiale en carbone faible, génération d'inhibiteurs, limitations aux transferts gaz-liquide, faibles rendements en produits à partir du carbone initial. Les projets actuels s'intéressent au développement de souches génétiquement modifiées et de bioprocédés innovants pouvant ouvrir de nouvelles opportunités de production. La valorisation (matière et chaleur) et le recyclage des sous-produits contribueront à la viabilité économique et environnementale de la voie lignocellulosique de production d'agro-carburants.

Mots-clés : Biomasse lignocellulosique, Prétraitements, Hydrolysats, Syngas, Agro-carburants, Levures, Bactéries

Abstract: Microbial conversion of lignocellulosic resources to energetic molecules : bottlenecks and prospects

The production of bioenergies represents an important challenge to reduce environmental impacts linked to fossil fuels and to increase energetic independence. This article proposes an overview of biofuels' production (ethanol, lipids and hydrogen mainly) by converting lignocellulosic resources using yeasts or bacteria (algal conversion is not considered). Both pretreatment and hydrolysis steps used to obtain liquid and gaseous substrates are presented and discussed. This review shows the scientific and technological bottlenecks of this conversion i.e. initial low carbon content, generation of inhibitors, limitations to gas-liquid transfers, low yields of products from the initial carbon. Current projects and prospects focus on the development of genetically modified strains and innovative bioprocesses that can offer new production opportunities. Matter and heat valorizations and recycling of by-products will contribute to the economic and environmental viability of the lignocellulosic pathway for the production of biofuels.

Keywords: Lignocellulosic biomass, Pretreatments, Hydrolysates, Syngas, Biofuels, Yeasts, Bacteria

Introduction

Considérant la nécessité de réduire les impacts environnementaux liés à l'utilisation des composés fossiles, d'accroître l'indépendance énergétique et de répondre à la demande croissante en énergie, le développement des bioénergies est un défi important aux enjeux croissants. Selon un récent rapport de l'Agence Internationale de l'Energie (IEA), la production mondiale de bioénergies devrait atteindre 2,01 EJ en 2018, contre 1,33 EJ en 2012, soit une augmentation annuelle moyenne de 7% <https://www.iea.org/topics/renewables/subtopics/bioenergy/>

Les biocarburants sont produits par des procédés biologiques ou thermiques au cours desquels la biomasse est convertie en carburants liquides (éthanol, lipides comme précurseurs) ou gazeux (syngas, isobutène ou hydrogène). Conformément à la Directive Européenne 2009/28/CE (modifiée en 2015), le terme "biomasse" désigne la fraction biodégradable des produits, des déchets et des résidus de l'agriculture (substances végétales et animales), de la sylviculture et des industries de la pisciculture ou aquaculture, ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels ou municipaux. Au cours de la dernière décennie, trois générations de biocarburants ont été obtenues successivement. Les différentes générations de biocarburants dépendent de la nature de la ressource mobilisée: 1G, à partir de saccharose et amidon ou de lipides issus de plantes oléagineuses en concurrence avec les usages alimentaires ; 2G à partir de ressources lignocellulosiques, de sous-produits industriels ou de déchets. La troisième génération concerne la conversion du CO₂ par des bactéries photosynthétiques et des algues (non abordé ici).

De nouvelles voies de production de ces biocarburants sont à l'étude depuis les dernières décennies. Le concept de bio- ou agro-raffinerie envisage la conversion maximale de la ressource en produits d'intérêt. Les analyses de cycle de vie et les évaluations économiques permettent d'évaluer la viabilité des filières industrielles envisagées et sont complétées aujourd'hui par des évaluations sociétales et éthiques (Kircher, 2015 ; Onel et al., 2015 ; Saygin et al., 2014). La conversion de matières lignocellulosiques en substrats liquides ou gazeux peut s'opérer selon deux voies (Figure 1): (1) des traitements physico-chimiques, chimiques et biologiques sont combinées pour produire initialement des hydrolysats liquides puis des biocarburants liquides ou gazeux et (2) des processus thermiques (combustion, gazéification et pyrolyse) qui produisent des gaz de synthèse ou syngas (i.e. mélanges gazeux CO, CO₂ et / ou H₂) qui sont ensuite transformés en molécules énergétiques des familles alcool ou lipide. Cet article synthétise les avancées et les perspectives clés de ces deux itinéraires de production.

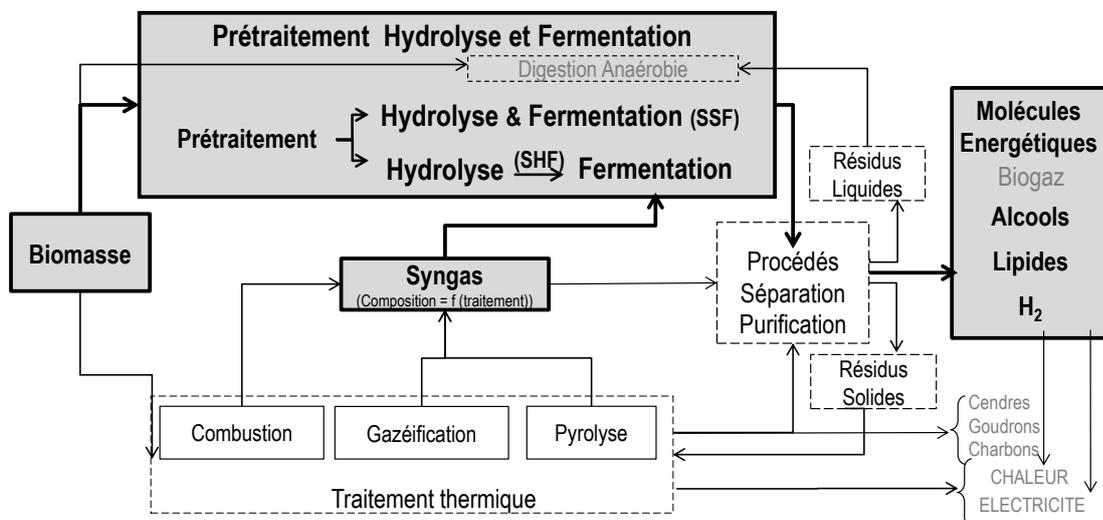


Figure 1 : Schéma des voies de valorisation de la biomasse en molécules énergétiques (physicochimique et biochimique vs thermique) (les aspects traités dans cet article sont en caractères gras).

1. Pré-traitement et hydrolyse de la biomasse lignocellulosique

La biomasse lignocellulosique est la ressource renouvelable la plus abondante qui pourrait répondre, selon certains auteurs, aux besoins énergétiques globaux annuels (Kircher, 2015 ; McKendry, 2002). La plupart des combustibles et des produits chimiques nécessaires à nos sociétés pourraient être obtenus à partir de cultures végétales dédiées ou autres biomasses en utilisant tous les flux d'approvisionnement possibles et en valorisant l'ensemble de la plante dans un contexte de durabilité (Octave et Thomas, 2009 ; Sánchez et Cardona, 2008 ; Taylor, 2008). La lignocellulose, principale composante des parois végétales, est composée de trois macromolécules principales : cellulose, hémicellulose et lignine. Ces trois macromolécules forment une structure tridimensionnelle complexe et résistante. La lignine est un composé aromatique composé de 3 hydroxy-propenyl-phenyl alcools (alcools coumarylique, coniferylique et sinapylique). La cellulose est un homopolymère de glucose, dans lequel les monomères de D-glucose sont liés par des liaisons β -1,4. Les hémicelluloses sont des hétéro-polysaccharides de pentoses (xylose et arabinose), d'hexoses (glucose, mannose et galactose), ou encore de sucres acétylés. Leurs compositions et structures dépendent de l'origine et de la nature de la biomasse (plantes herbacées, tiges et feuilles de maïs, blé, paille de riz, etc) (Kumar et al., 2009 ; Lee, 1997 ; Ravindran et Jaiswal, 2016).

La conversion de ressources lignocellulosiques en biocarburants est réalisée en trois étapes principales : (1) le prétraitement qui déconstruit les matrices lignocellulosiques complexes pour faciliter (2) l'hydrolyse permettant une libération optimale de carbone fermentescible pour (3) la fermentation (Jönsson et Martín, 2016 ; Singh et al., 2016). Les performances de production finale dépendent des concentrations en sucres fermentescibles et donc de la nature de la biomasse choisie et de l'efficacité des procédés de prétraitement et d'hydrolyse.

1.1 Procédés majeurs de prétraitement

Différentes techniques de prétraitement existent pour déconstruire la matrice lignocellulosique (Figure 2). Les enjeux de cette étape résident notamment dans l'élimination de la lignine, l'extraction de poly- ou monosaccharides et la minimisation des sous-produits, pouvant générer des inhibitions enzymatiques et/ou microbiennes.

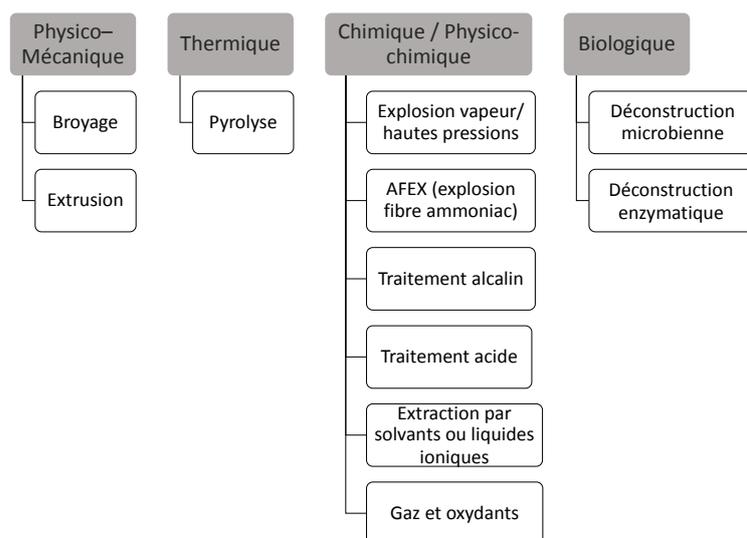


Figure 2 : Procédés de pré-traitement pour la dégradation de la lignocellulose

Les articles de Behera et al. (2014) et Sun et al. (2016) décrivent en détail les effets de ces procédés sur la déconstruction des matières lignocellulosiques (Behera et al., 2014 ; Sun et al., 2016). Les

principaux critères recherchés pour un prétraitement efficace sont : (i) récupération de la lignine et des hémicelluloses, (ii) augmentation de la surface accessible et de la porosité de la cellulose en vue de l'hydrolyse, (iii) diminution de l'indice de cristallinité de la cellulose et sa dépolymérisation avec les plus faibles teneurs en inhibiteurs (dérivés furaniques (HMF, Furfural) ou phénoliques et acide acétique issus des prétraitements acide ou explosion vapeur) pour les futures étapes biocatalytiques (enzymatique et microbienne) (Tableau 1).

Tableau 1: impact des différents procédés de prétraitement sur la composition et la structure des matériaux lignocellulosiques (synthèse issue de Sun et al., (2016) et Alvira et al., (2010))

Méthodes de prétraitement (références)	Récupération de la lignine	Elimination des hémicelluloses	Augmenter l'accessibilité	Diminuer la cristallinité de la cellulose	Augmenter la porosité	Génération d'inhibiteurs
Broyage (da Silva et al., 2010; Hideno et al., 2009 ; Inoue et al., 2008)			H/H	H/H		L/-
Alcalin (Geng et al., 2014 ; Miura et al., 2012 ; Su et al., 2015)	H/M	H/L	H/H		H	L/L
Acide (Carvalho et al., 2008)	M/M	H/H	H/H		M	H/H
Oxydants (Travaini et al., 2016)	H/M		-/H	nd	H	L/L
Organosolv	H	L	H		M	L
Liquides ioniques (Mai et al., 2014 ; Nguyen et al., 2010; Zavrel et al., 2009)	M	L	H	H	H	L
Explosion vapeur (Taniguchi et al., 2010)	L/M	H/H	H/H	L/-	H	H/H
Hydrothermique	M	H	M		M	
AFEX (Dale et al., 1996; Lee et al., 2010; Zhao et al., 2014)	M/H	L/M	H/H	H/H	H	L/L
CO₂ supercritique	L	L/H	H/H	-	H	L
Biologique (Lee, 1997; Monroy et al., 2010; Yu et al., 2010)	H	M	H		H	L

(*) H: fort impact, M: effet modéré, L: faible impact, nd: non déterminé

L'analyse bibliographique montre que les traitements alcalins, oxydants, biologiques et par solvants (Organosolv) permettent la récupération de la lignine. La structure de la lignocellulose peut être alors soit solubilisée (acide et alcalin), ou délignifiée et dépolymérisée (biologique). Les mêmes phénomènes peuvent être observés pour les hémicelluloses et se produisent de façon concomitante pour les prétraitements acide, alcalin, hydrothermique et vapeur (solubilisation des hémicelluloses) ou biologiques (dégradation des hémicelluloses). Tous les procédés de prétraitement listés permettent d'accroître la surface accessible et la porosité des fibrilles de cellulose, augmentant ainsi l'efficacité de l'hydrolyse enzymatique. Par ailleurs, le broyage, l'utilisation de liquides ioniques ou l'explosion de fibres à l'ammoniac (AFEX) offrent l'avantage de diminuer l'indice de cristallinité de la cellulose (Dale et al., 1996 ; Vlasenko et al., 1997). Ceci permet de réduire la quantité d'enzyme utilisée lors de l'étape d'hydrolyse. A titre d'exemple, Dale et al. (1996) ont montré que les rendements d'hydrolyse après 24 heures étaient quatre à cinq fois plus élevés que ceux obtenus sans traitement AFEX même pour des quantités d'enzyme faibles (5 et 2 U/g de *Panicum* secs respectivement (Dale et al., 1996). Les inconvénients majeurs des procédés de prétraitement peuvent être classés en trois catégories : (1)

consommation d'énergie élevée (broyage, hydrothermique et CO₂ supercritique), (2) coûts élevés de fonctionnement (liquides ioniques, oxydants et Organosolv), et (3) production de molécules toxiques qui inhibent les processus d'hydrolyse et de fermentation (explosion à la vapeur, prétraitement acide, hydrothermique) (Alvira et al., 2010 ; Kumar et al., 2009).

Aussi, ces dernières années, des procédés de prétraitement combinés sont développés pour optimiser à la fois les rendements en masse et en énergie. On trouve alors dans la littérature, nombre d'exemples de couplage : extrusion – explosion vapeur (Chen et al., 2014), extrusion couplée ou non à une déconstruction enzymatique ou alcaline (Duque et al., 2013 ; Duque et al., 2014 ; Kang et al., 2013), broyage en milieu acide oxalique associé à un traitement hydrothermique sous microondes (Deng et al., 2016). Pour chaque procédé couplé, un optimum multi-critères est recherché. Par exemple, le couplage extrusion-explosion vapeur est moins performant que l'explosion vapeur seule, mais il génère moins de composés inhibiteurs et des coûts de fonctionnement moins élevés (Chen et al., 2014).

Les prétraitements biologiques par des champignons (*white-* ou *brown-rot fungi*) permettent de casser le complexe lignine-cellulose en réduisant les impacts environnementaux comparés aux prétraitements acide ou alcalin, par solvant ou sous pression. Ils sont cependant limitants de par le temps de réaction (environ 3–5 mois) ; La quantité de carbone valorisable *in fine* est réduite du fait de sa consommation partielle par la croissance fongique lors du pré-traitement. Des études récentes couplent donc le prétraitement fongique à des procédés chimiques type Organosolv (Monrroy et al., 2010) ou à des prétraitements alcalin et oxydant (Yu et al., 2010). Dans ce dernier cas, les résultats montrent qu'un court prétraitement biologique initial augmente l'efficacité du prétraitement (physico-) chimique ultérieur, en diminuant significativement le contenu en lignine (de 12.4% à 6.2% (Yu et al., 2010)).

En conclusion, à ce jour, les avancées scientifiques et technologiques permettent une récupération efficace de la lignine (valorisable en chaleur ou produits à haute valeur ajoutée) associée à des rendements élevés dans la récupération des glucides (et minimisant la perte de matière), avec de faibles teneurs en composés toxiques. Les axes de recherche futurs devraient se concentrer sur l'étude approfondie des mécanismes de déconstruction de la lignocellulose et la conception de nouvelles combinaisons de technologies de prétraitement minimisant les dépenses énergétiques et les impacts environnementaux.

1.2 Hydrolyse

Le processus d'hydrolyse est l'une des étapes clés de la dégradation de la lignocellulose. Elle implique la dépolymérisation de la cellulose et de l'hémicellulose en monomères de sucres en C6 et C5 (glucose, mannose, xylose, arabinose, etc.) qui pourront être métabolisés par des levures ou des bactéries lors de la fermentation. L'hydrolyse peut s'effectuer chimiquement (en utilisant un acide ou une base dilué ou concentré) ou biochimiquement par des enzymes. Actuellement, l'hydrolyse enzymatique est préférée pour éviter la corrosion et les coûts opératoires et environnementaux des procédés chimiques (Kumar et al., 2009). L'efficacité de l'hydrolyse enzymatique dépend non seulement du prétraitement utilisé, mais également de l'activité des enzymes sélectionnées. Plusieurs études ont tenté d'améliorer cette efficacité par : (1) une meilleure caractérisation et compréhension de la liaison de l'enzyme à la cellulose ou à l'hémicellulose; (2) le screening de nouvelles cellulases et hémicellulases robustes et à hautes performances; (3) l'amélioration de la stabilité et de l'efficacité des enzymes vis-à-vis du pH et de la température pour les procédés SHF ou SSF. Ainsi, des revues et articles récents ont focalisé sur une meilleure caractérisation et compréhension des mécanismes des réactions associant cellulases et hémicellulases pour concevoir des cellulosomes / hémicellulosomes à hautes performances (Behera et Ray, 2016 ; Cobucci-Ponzano et al., 2015 ; Dumon et al., 2012). Toutes les enzymes actives sur les carbohydrates sont recensées au sein de la base de données CAZy (glycoside-hydrolases, glycosyl-transferases par exemple). Les développements les plus récents concernent (4) les bioprocédés consolidés (CBP Consolidated BioProcesses). Les CBP se divisent en 2 catégories : le CBP type I

concerne les souches hydrolytiques modifiées pour y inclure une voie de biosynthèse de molécules énergétiques et le CBP type II désigne des souches naturellement éthanogènes dans lesquelles sont insérées des voies codant pour des activités cellulo- ou hemicellulo-lytiques (Amore et Faraco, 2012). Les bactéries des genres *Escherichia coli*, *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, des levures (principalement *Saccharomyces cerevisiae*), et des champignons (*Trichoderma reesei* et *Fusarium oxysporum*) ont largement été explorées comme biocatalyseur-hôte « idéal » (Bhalla et al., 2013 ; Hasunuma et al., 2013 ; Khuong et al., 2014 ; Lin et al., 2015 ; Zerva et al., 2014). Les performances demeurent modestes à ce jour : citons par exemple, 5.4 g/L isobutanol obtenus par fermentation à 50°C de cellulose avec une souche ingénierée de *Clostridium thermocellum* (Lin et al., 2015) ; 1.2 g/L d'éthanol par fermentation de grain par *Paecilomyces variotii* (Zerva et al., 2014) mais avec un rendement obtenu (52%) comparable à celui reporté pour *Fusarium oxysporum* (60% du rendement théorique) (Xiros et Christakopoulos, 2009). Les performances obtenues avec des CBP doivent être nécessairement augmentées pour tendre vers ceux détaillés dans le paragraphe suivant ; ce concept demeure prometteur pour des réductions de coûts environnementaux et opératoires.

Dans la filière de bioraffinerie des lignocelluloses, la dégradation de la fraction récalcitrante (la chitine par exemple) demeure un challenge pour maximiser la valorisation de la matière. Depuis 2010, des articles relatent la capacité de métallo-enzymes d'origine bactérienne ou fongique à dégrader la structure de ces polysaccharides particuliers (Hemsworth et al., 2013). Depuis 2013, ces enzymes sont classées dans la base de données CAZy comme Activité Auxiliaire (AA9 et AA10). Elles étaient anciennement connues et classées comme Lytic Polysaccharide MonoOxygenases (LPMO). Plus de 60 articles au cours des 3 dernières années ont été publiés tant sur la caractérisation structurale que fonctionnelle de ces enzymes (Mekasha et al., 2016 ; Span et Marletta, 2015) et leurs activités (Hamre et al., 2015).

Aussi, au vu des résultats prometteurs décrits ci-dessus, les prochains défis scientifiques et techniques concernent la combinaison optimale de procédés de prétraitement et d'hydrolyse à haute matière sèche (HMS) (i.e. teneur supérieure à 15-20% matière sèche (w/w)) afin de rendre la production de molécules énergétiques (ou autres) économiquement viable. En effet, ces procédés HMS offrent l'avantage de fortes concentrations en substrats fermentescibles et donc in fine en produit(s), en minimisant les besoins énergétiques et les coûts de production notamment pour la séparation/purification grâce à de forts titres ou productivités (Geng et al., 2015 ; Guragain et al., 2016 ; Matano et al., 2013). Néanmoins, travailler à HMS peut induire des limitations comme le manque d'eau nécessaire pour l'hydrolyse et des limitations aux transferts de matière et de chaleur dues à des problèmes de mélange (Da Silva Martins et al., 2015).

2. Des hydrolysats lignocellulosiques liquides aux molécules énergétiques

Pour l'étape de fermentation, deux approches complémentaires coexistent : l'utilisation de souches sauvages performantes et le développement de souches génétiquement modifiées intégrant de voies de synthèse hétérologues. Les principales molécules énergétiques recherchées sont les alcools (éthanol, butanol, isopropanol), les lipides ou acides gras (précurseurs de biodiesel par exemple), l'hydrogène et les alcanes. Les développements de la biologie synthétique ont considérablement augmenté le nombre de molécules plateformes qui pourraient être produites par voie microbienne. Cependant, les verrous qui limitent leur exploitation concernent (1) la robustesse des souches modifiées au sein des procédés industriels et (2) la réglementation qui restreint leurs utilisation dans des procédés industriels.

Plusieurs études utilisent le glucose ou le xylose comme source carbonée modèle (pure) pour quantifier les performances de production de biocarburants à partir de matière première lignocellulosique. Ces monosaccharides représentent en effet plus de 60% de la composition de cette ressource. Certains procédés de prétraitement peuvent générer différents co-produits comme des dérivés furaniques

(furfural, 5-hydroxymethyl furfural) et phénoliques (vanilline, acides vanillique ou trans-p-coumarique) et l'acide acétique. L'impact des inhibiteurs sur le métabolisme microbien a été largement étudié par ajouts sur milieux modèles et hydrolysats (Huang et al., 2014 ; Kurosawa et al., 2015 ; Sitepu et al., 2014 ; Wang et al., 2014 ; Yu et al., 2011). Ces travaux ont permis de mieux comprendre leurs effets en identifiant les cibles biologiques pour (i) améliorer la tolérance microbienne et développer des souches efficaces et (ii) déduire des voies de détoxification. Peu d'études sont réalisées sur milieux réels où interviennent des effets complexes et synergiques de ces composés (Jin et al., 2015).

2.1 Alcools

L'éthanol est la première molécule envisagée comme biocarburant car compatible en mélange direct avec l'essence (Balat et al., 2008 ; Kircher, 2015 ; Taylor, 2008). Sa production par des levures du genre *Saccharomyces* genus est connue et étudiée depuis des décennies notamment pour l'élaboration de boissons fermentées (Brandberg et al., 2007 ; Cardona et Sanchez, 2007 ; Olofsson et al., 2008a). Néanmoins, d'autres micro-organismes tels que la levure *Kluyveromyces* ou la bactérie *Zymomonas* (Bai et al., 2008 ; Patle et Lal, 2008) permettent des niveaux de production d'éthanol intéressants (87 g/L soit environ 11° obtenu à 37°C avec *K. marxianus* sur jus de canne à sucre complémenté (Limtong et al., 2007), 65.3 g/L avec *Z. mobilis* à partir de déchet agro-industriel (i.e. thippi) (Patle et Lal, 2008)). Au cours des 10 dernières années, les études portent majoritairement sur les modifications génétiques et moléculaires de bactéries ou de levures pour insérer des voies hétérologues, notamment pour acquérir la capacité à consommer les sucres en C5 (ex. chez *Saccharomyces* (Olofsson et al., 2008b)) ou pour accroître le potentiel éthanogène (ex. chez *E. coli* (Lawford et Rousseau, 1996)). Les défis actuels portent sur l'augmentation des rendements de conversion, la robustesse des souches, la tolérance à l'éthanol et l'évolution dirigée de ces souches par ingénierie métabolique ou adaptation pour les rendre industriellement utilisables.

De nombreuses études expérimentales et numériques (simulations permettant de maximiser tous les critères liés au prétraitement, hydrolyse et fermentation (Khoo, 2015)) envisagent les potentialités de production d'éthanol à partir de diverses ressources lignocellulosiques telles que les pailles d'orge (Han et al., 2013), de blé (Wang et al., 2016), de maïs ou de riz, la bagasse de canne à sucre, les plantes herbacées type switchgrass (Khoo, 2015). Les meilleures performances de production recensées dernièrement sont présentées dans le tableau suivant (Tableau 2).

Tableau 2 : Meilleures performances de production d'éthanol obtenues à partir de ressources lignocellulosiques (a) Exprimé en g/L ; (b) % rendement théorique en ethanol ; (c) WIS = insolubles solides ; (d) Fermentation et Saccharification simultanées ; (e) résultats issus de simulations ; (f) en L / t biomasse utilisée.

[Ethanol]	R (%) ^(b)	Matière première utilisée	Référence
46 ^(a)	77	paille d'orge prétraitée 20% (w/w)	(Han et al., 2013)
28.1 ^(a)	92.9	paille d'orge prétraitée 10% (w/w)	(Han et al., 2013)
65.4 ^(a)	85	bagasse prétraitée vapeur 10 % (w/w) WIS ^(c) + 10% (v/v) molasses procédé SSF ^(d)	(Unrean et al., 2016)
57 ^(a)	nd	Paille de blé (prétraitée vapeur) 22% WIS ^(c) (échelle Laboratoire)	(Wang et al., 2016)
52 ^(a)	nd	Paille de blé (prétraitée vapeur) 22% WIS ^(c) (échelle pilote 10 m ³)	(Wang et al., 2016)
160 ^(a,d)	85	Paille de riz Procédé SSF ^(d)	
222–342 ^(e,f)	nd	Paille de maïs	(Khoo, 2015) ^(e)
241–469 ^(e,f)	nd	Bagasse de canne à sucre	
183-390 ^(e,f)	nd	Switchgrass	

Pour des alcools moins conventionnels que l'éthanol (butanol, isopropanol) ou même des alcanes, les futurs développements concernent l'ingénierie métabolique pour augmenter la tolérance et la résistance des souches à ces alcools et développer de nouveaux micro-organismes intégrant des voies hétérologues de production de ces alcools spécifiques.

2.2 Lipides, précurseurs des biocarburants

La production de lipides par conversion microbienne d'hydrolysats lignocellulosiques met en œuvre des levures et des bactéries dites oléagineuses : cette voie a été étudiée afin d'évaluer sa viabilité économique et sa faisabilité technique avec l'utilisation des acides gras comme précurseurs des biocarburants. *Yarrowia lipolytica* est la levure oléagineuse la plus étudiée d'un point de vue académique pour ses capacités de production d'acides gras sur milieux synthétiques et substrats purs ; elle est un outil d'ingénierie métabolique privilégié, les outils génétiques de transformation étant désormais disponibles. Toutefois, sur hydrolysats réels, les plus récents travaux, en nombre encore restreint, focalisent essentiellement sur *Rhodococcus opacus* et *Rhodotorula glutinis* (étude des cinétiques de croissance de ces microorganismes oléagineux).

Wang et al. (2014) rapportent que la souche oléagineuse *R. opacus* PD630 peut croître sur différents substrats lignocellulosiques (sorgho et paille de maïs) prétraités avec une solution d'hydroxyde de sodium et hydrolysés par des enzymes (Wang et al., 2014). Ces résultats préliminaires argumentent de la possibilité de produire des lipides microbiens à partir de biomasses lignocellulosiques réelles, en restant toutefois limités à l'évaluation de la croissance. En complément, la culture de *R. opacus* DSM 1069 sur un effluent de pin prétraité (Organosolv) en tubes (Wells et al., 2015) constitue une preuve de concept de la production de lipides sur substrats réels, avec l'obtention en 120 h d'une teneur maximale en lipides de $26.99\% \pm 2.88\%$ de masse sèche de cellule. Bien que le rendement soit faible (0.06 g de lipides produits par gramme), *R. opacus* DSM 1069 est une souche candidate à fort potentiel par sa capacité à consommer des sucres et dégrader les composés aromatiques contenus dans les effluents lignocellulosiques (Kosa et Ragauskas, 2013 ; Wells et al., 2015). Le métabolisme lipidique de *Trichosporon fermentans* a été étudié en bioréacteurs sur des hydrolysats de paille de riz (Huang et al., 2014). Les résultats révèlent que les performances en termes de durée de la fermentation, concentration maximale en biomasse et teneur en lipides de *T. fermentans* sur des hydrolysats réels de paille de riz sont faibles par rapport à celles obtenues sur milieu synthétique. L'effet inhibiteur des hydrolysats de paille de riz sur la croissance et l'accumulation de lipides consiste en une réduction des activités des enzymes clés et une modification de la morphologie cellulaire.

Liu et al. (2015) ont décrit le potentiel de production de lipides de *R. glutinis* à partir d'une grande variété de biomasses lignocellulosiques (Liu et al., 2015). La production de lipides de *R. glutinis* sur des hydrolysats détoxifiés de paille de blé et des hydrolysats de *Miscanthus* a été étudiée en culture discontinue (Mast et al., 2014) : la croissance est similaire sur les deux hydrolysats et la production de lipides est favorisée sur les hydrolysats de paille de blé à cause d'une teneur en sucre plus élevée. En complément, Liu et al. ont révélé que *R. glutinis*, avec une tolérance élevée aux inhibiteurs, peut croître et accumuler des lipides lors de culture en mode discontinu ; avec une stratégie d'apport contrôlé en azote, en mode discontinu alimenté, les performances sont toutefois améliorées par rapport au mode discontinu, avec une concentration en cellules de 70.8 g/L et une teneur en lipides de 47.2% (Liu et al., 2015).

Parmi *Rhodospiridium* spp., une espèce de levure oléagineuse capable de convertir de nombreux hydrolysats de biomasses lignocellulosiques en lipides, le potentiel de *Rhodospiridium toruloides* Y4 et *Rhodospiridium kratochvilovae* HIMPA1 a été étudié sur des extraits de topinambour (Zhao et al., 2010) et *Cassia fistula* L. respectivement (Patel et al., 2015). Des cultures de levure oléagineuse de *R. toruloides* Y4, en mode discontinu alimenté sur des hydrolysats concentrés de topinambour, ont permis d'atteindre une concentration en lipides et une teneur intracellulaire en lipides de 39.6 g/L and 56.5%

(w/w) respectivement, avec une productivité en lipides de 0.33 à 0.38 g/L/h (Zhao et al., 2010). Sur un extrait aqueux de *C. fistula* L, en erlenmeyer après 144 h de culture à 30 °C, la concentration maximale en lipides chez *R. kratochvilovae* HIMPA1 est de 4.73 ± 0.34 g/L, la teneur en lipides de 53.18% avec une concentration cellulaire de 8.9 ± 0.12 g masse sèche /L (Patel et al., 2015). Ces deux types de substrats lignocellulosiques sont avantageux d'un point de vue coût mais la faible production en lipides obtenue à ce jour limite leur utilisation et argumente de travaux ultérieurs. En complément, l'analyse économique de la production de lipides a révélé que le coût de la matière première représente 40 à 50% du cout total, l'étape d'hydrolyse incluant la détoxification représente 20% et les opérations de séparation/purification 25% (Huang et al., 2008; Jin et al., 2015; Subramaniam et al., 2010).

2.3 Hydrogène

Les microorganismes comme *Clostridium*, *Pyrococcus*, and *Thermotoga* sont identifiés pour leur capacité à produire de l'hydrogène à partir de glucose ou xylose. En culture pure, la vitesse maximale de production varie de 8.35 à 21 mmol H₂/L/h avec un rendement en hydrogène compris entre 0.7 et 2.37 moles par mole de substrat (Ren et al., 2009). A partir d'une étape optimisée de prétraitement de *Miscanthus*, la conversion par *Thermotoga elfii* a permis d'atteindre 82.2 and 42.4 mmol/L d'hydrogène et d'acétate produits respectivement (de Vrije et al., 2002). Ce résultat correspond à un rendement en hydrogène de 2.7 moles par mole de sucre total consommé, un des meilleurs résultats obtenus à ce jour comparé à la valeur théorique de 4 moles d'hydrogène par mole de glucose. Les facteurs clé qui régissent la production d'hydrogène à partir d'hydrolysats sont la présence d'inhibiteurs (dérivés furaniques et phénoliques), le pH, la température et les besoins en supplémentation nutritionnelle. D'autres procédés couplant la fermentation sombre à la photofermentation peut accroître l'efficacité de la production de H₂ (Ren et al., 2009).

3. Des substrats lignocellulosiques gazeux aux biocarburants

La gazéification de la biomasse lignocellulosique produit un mélange de gaz appelé 'syngas', composé essentiellement de monoxyde de carbone (CO), hydrogène (H₂), azote (N₂), dioxyde de carbone (CO₂), de faible quantité en méthane (CH₄) et d'une grande variété de gaz présents sous forme de traces. La composition du gaz dépend du procédé (Munasinghe et al. (2010)): 14–67% de CO, 1–50% de N₂, et 5–32% de H₂. Le monoxyde de carbone est le substrat majoritaire d'une grande variété de microorganismes capable de produire des molécules énergétiques comme des alcools et de l'hydrogène (Mohammadi et al., 2011).

3.1 Syngas et transfert

Les faibles solubilités du CO et H₂ constituent les principaux verrous du développement de la filière. Les faibles vitesses de transfert des substrats gazeux dans le mout liquide de fermentation limitent la concentration and la productivité en produit d'intérêt (Mohammadi et al., 2011; Munasinghe et Khanal, 2010). Les valeurs maximales de coefficient volumétrique de transfert de matière sont très inférieures à celles de l'oxygène à savoir 137 et 335 h⁻¹ pour CO et H₂, respectivement, dans un réacteur à lit fixe (Munasinghe et Khanal, 2010), 154.8 et 292.68 h⁻¹ pour CO et le syngas respectivement, dans un réacteur continu infiniment mélangé, 450 h⁻¹ pour CO dans un réacteur à biofilm (Yasin et al., 2015). Selon Yasin et al. (2015), le réacteur « idéal » pour la conversion microbienne de syngas est un réacteur à membranes à fibres creuses et biofilm : une valeur du coefficient de transfert de matière de 1096.2 h⁻¹ a été obtenue avec des fibres en polypropylène (PP) (Yasin et al., 2015). L'impact de nanoparticules de silice de méthyle fonctionnalisés (à une concentration de 0.3 % w/w) sur l'épaisseur de la couche limite gaz-liquide a été étudié pour améliorer le transfert dans la fermentation de gaz de

synthèse : les concentrations dissoutes de CO et H₂ ont été augmentées de 272.9 % et 156.1 %, respectivement. En conséquence, une augmentation de 166.1% en éthanol produit par *Clostridium ljungdahlii* a été mesurée, à relier à une concentration en hydrogène accrue dans le milieu qui favorise la production d'éthanol comme accepteur d'électron.

En complément, un réacteur « idéal » devrait coupler un système de nettoyage des gaz pour éliminer les impuretés (méthane, acétylène, éthylène, éthane, benzène, sulfites, dioxyde de soufre, ...) qui affectent le métabolisme microbien et donc les performances du procédé (Xu et Lewis, 2012 ; Maddipati et al., 2011). La composition en nutriments doit être ajustée pour éviter les limitations en azote et vitamines qui affectent des activités enzymatiques et microbiennes et pour améliorer la tolérance aux composés métalliques présents sous forme de traces.

3.2 Ethanol et autres alcools

Clostridium ljungdahlii, *Clostridium autoethanogenum*, *Acetobacterium woodii*, *Clostridium carboxidivorans*, et *Butyribacterium methylotrophicum* (Munasinghe et Khanal, 2010) sont des bactéries impliquées dans la production d'alcools, dont l'éthanol et le butanol, à partir de CO et H₂. Les *Clostridia* ont été particulièrement étudiées: les challenges actuels concernent une amélioration de la compréhension de la fixation du carbone, de la formation de produits, des cibles génétiques pour construire des souches très performantes en termes de production d'alcool et de résistance (Maddipati et al., 2011). Ces microorganismes anaérobies utilisent la voie de l'acétyl coenzyme A (acetyl-CoA) pour produire l'éthanol, l'acide acétique, le butanol, et le butyrate à partir de CO et H₂ avec une efficacité qui dépend de la composition du syngas. Skidmore et al. (2013) ont révélé, lors de leurs travaux sur l'hydrogénase de *Clostridium* P11, que la pression partielle en oxygène impacte fortement l'efficacité de l'activité de l'hydrogénase (Skidmore et al., 2013). Avec l'hydrogénase de *Clostridium ragsdalei*, Xu et Lewis (2012) mentionnent qu'une fraction molaire de 0.37% de NH₃, impureté contenue dans les syngas, inhibent l'activité hydrogénase et la croissance cellulaire. Malgré des travaux complémentaires sur *E. coli*, le mécanisme de cette inhibition reste à élucider (Xu et Lewis, 2012) en lien avec des résultats précédents sur l'inhibition du NO pour des fractions molaires inférieures à 0.015% (Ahmed et Lewis, 2007).

Une concentration en éthanol maximale de 48 g/L avec *C. ljungdahlii* à partir de CO/H₂ après 560 h a été reportée dans la littérature (Klasson et al., 1993). Il convient de préciser que la production microbienne d'éthanol à partir de syngas nécessite des complémentations nutritionnelles en carbone et micronutriments des milieux de culture avec de l'extrait de levure (jusqu'à 2 g/L), de maïs ou de coton (Gao et al., 2013 ; Munasinghe et Khanal, 2010 ; Ramio-Pujol et al., 2015). Lorsque les quantités apportées sont importantes, l'extrapolation du procédé est limitée par les coûts élevés de ces additifs et la maîtrise de la part du carbone provenant du CO ou des additifs est difficile. Des concentrations en éthanol de 8.6 and 9.6 g/L ont été obtenues avec des concentrations en extraits de maïs de 10 et 20 g/L respectivement lors de fermentation à partir de syngas, à comparer avec 6.1 g/L d'éthanol produit avec 1 g/L d'extrait de levure après 360 h (Maddipati et al., 2011). Gao et al. (2013) ont développé un milieu à bas coût en réduisant la concentration en extraits de levure et en minéraux ajoutés pour la production d'éthanol à partir de syngas par *C. ragsdalei* (Gao et al., 2013).

3.3 Hydrogène

De nombreuses bactéries anaérobies hétérotrophes, anaérobies facultatives hétérotrophes, anaérobies strictes hétérotrophes et photosynthétiques produisent de l'hydrogène par oxydation du CO. Les microorganismes photosynthétiques sont les plus abondants mais ils ne sont pas considérés ici. Le taux de croissance des bactéries mésophiles productrices d'hydrogène sur CO est très faible avec une inhibition par le CO due à sa forte affinité pour les métallo-enzymes (Ritimann et al., 2015). Les

bactéries thermophiles *Carboxydotherrmus hydrogenoformans*, *Carboxydocella thermautotrophica*, *Thermosinus carboxydivorans*, et *Caldanaerobacter subterraneus subsp. pacificus* sont les plus intéressantes pour leur capacité à croître en présence de fortes concentrations en CO. La vitesse maximale de production d'hydrogène avec une souche modifiée *Thermococcus onnurineus* est de 102.6 mmol/L/h à partir de CO:H₂:CO₂ de composition (molaire) comprise entre 1:1.04:1 et 1:1.07:1, avec un ajout de 10 g/L d'extrait de levure (Kim et al., 2014). Malgré des efforts de recherche, ces performances restent très réduites pour des applications biocarburants et des travaux complémentaires sont indispensables. Des microorganismes acétogènes peuvent également convertir du CO en butanol (Durre et Eikmanns, 2015 ; Mohammadi et al., 2011) mais compte tenu des faibles performances obtenues avec des espèces sauvages (<1 g/L à partir de CO/H₂), des travaux d'ingénierie de souches sont en cours et offrent de nouvelles opportunités.

Conclusions

La conversion de ressources lignocellulosiques en molécules énergétiques principalement éthanol, lipides - comme des précurseurs des biocarburants - et hydrogène, présentent des challenges scientifiques et techniques pour satisfaire les ambitions européennes d'indépendance énergétique et de réduction des impacts environnementaux. Étudié de façon approfondie au cours des dernières décennies, le concept de bioraffinerie des ressources lignocellulosiques s'enrichit aujourd'hui d'avancées majeures au niveau des procédés de prétraitement combinés, des développements de l'ingénierie enzymatique et microbienne, et d'une meilleure connaissance des processus fondamentaux des procédés.

Les principaux freins à ces productions issus de ressources lignocellulosiques sont (1) les faibles concentrations en carbone disponible dans les substrats liquides et gazeux liés à la faible solubilité du CO et de H₂ qui limitent les concentrations en produits d'intérêt et (2) la présence d'inhibiteurs dans les hydrolysats ou dans les gaz de synthèse issus des ressources lignocellulosiques qui réduisent les performances du procédé de transformation microbien (i.e. l'étape de d'hydrolyse et de fermentation). Aussi, de nombreuses d'études sont en cours pour explorer ces verrous scientifiques et techniques. Les enjeux résident aujourd'hui dans l'écoconception de filières de transformation combinant efficacement prétraitement, hydrolyse et fermentation, séparation/purification, économiquement viables dans un contexte de volatilité des coûts de matières premières avec un impact environnemental réduit.

Références Bibliographiques

- Ahmed A., Lewis R.S., 2007. Fermentation of biomass-generated synthesis gas: Effects of nitric oxide. *Biotechnology and Bioengineering*, 97(5), 1080-1086.
- Alvira P., Tomás-Pejó E., Ballesteros M., Negro M.J., 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101(13), 4851-4861.
- Amore A., Faraco V., 2012. Potential of fungi as category I Consolidated BioProcessing organisms for cellulosic ethanol production. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 16(5), 3286-3301.
- Bai F.W., Anderson W.A., Moo-Young M., 2008. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances*, 26(1), 89-105.
- Balat M., Balat H., Öz C., 2008. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(5), 551-573.
- Behera S., Arora R., Nandhagopal N., Kumar S., 2014. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 36, 91-106.
- Behera S.S., Ray R.C., 2016. Solid state fermentation for production of microbial cellulases: Recent advances and improvement strategies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 656-669.

- Bhalla A., Bansal N., Kumar S., Bischoff K.M., Sani R.K., 2013. Improved lignocellulose conversion to biofuels with thermophilic bacteria and thermostable enzymes. *Bioresource Technology*, 128, 751-759.
- Brandberg T., Karimi K., Taherzadeh M.J., Franzen C.J., Grustafsson L., 2007. Continuous fermentation of wheat-supplemented lignocellulose hydrolysate with different types of cell retention. *Biotechnology and Bioengineering*, 98(1), 80-90.
- Cardona C.A., Sanchez O.J., 2007. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. *Bioresource Technology*, 98(12), 2415-2457.
- Carvalho F., Duarte L.C., Girio F.M., 2008. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 67(11), 849-864.
- Chen J., Zhang W., Zhang H., Zhang Q., Huang H., 2014. Screw extrude steam explosion: A promising pretreatment of corn stover to enhance enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 161, 230-235.
- Cobucci-Ponzano B., Strazzulli A., Iacono R., Masturzo G., Giglio R., Rossi M., Moracci M., 2015. Novel thermophilic hemicellulases for the conversion of lignocellulose for second generation biorefineries. *Enzyme and Microbial Technology*, 78, 63-73.
- da Silva A.S., Inoue H., Endo T., Yano S., Bon E.P.S., 2010. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Bioresource Technology*, 101(19), 7402-7409.
- Da Silva Martins L.H., Rabelo S.C., Carvalho da Costa A., 2015. Effects of the pretreatment method on high solids enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation of the cellulosic fraction of sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 191, 312-321.
- Dale B.E., Leong C.K., Pham T.K., Esquivel V.M., Rios I., Latimer V.M., 1996. Hydrolysis of lignocellulosics at low enzyme levels: Application of the AFEX process. *Bioresource Technology*, 56(1), 111-116.
- de Vrije T., de Haas G.G., Tan G.B., Keijsers E.R.P., Claassen P.A.M., 2002. Pretreatment of Miscanthus for hydrogen production by Thermotoga elfii. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27(11-12), 1381-1390.
- Deng A., Ren J., Wang W., Li H., Lin Q., Yan Y., Sun R., Liu G., 2016. Production of xylo-sugars from corncob by oxalic acid-assisted ball milling and microwave-induced hydrothermal treatments. *Industrial Crops and Products*, 79, 137-145.
- Dumon C., Song L., Bozonnet S., Fauré R., O'Donohue M.J., 2012. Progress and future prospects for pentose-specific biocatalysts in biorefining. *Process Biochemistry*, 47(3), 346-357.
- Duque A., Manzanares P., Ballesteros I., Negro M.J., Oliva J.M., Saez F., Ballesteros M., 2013. Optimization of integrated alkaline-extrusion pretreatment of barley straw for sugar production by enzymatic hydrolysis. *Process Biochemistry*, 48(5-6), 775-781.
- Duque A., Manzanares P., Ballesteros I., Negro M.J., Oliva J.M., Saez F., Ballesteros M., 2014. Study of process configuration and catalyst concentration in integrated alkaline extrusion of barley straw for bioethanol production. *Fuel*, 134, 448-454.
- Durre P., Eikmanns B.J., 2015. C1-carbon sources for chemical and fuel production by microbial gas fermentation. *Current Opinion in Biotechnology*, 35, 63-72.
- Gao J., Atiyeh H.K., Phillips J.R., Wilkins M.R., Huhnke R.L., 2013. Development of low cost medium for ethanol production from syngas by *Clostridium ragsdalei*. *Bioresource Technology*, 147, 508-515.
- Geng W., Huan T., Jin Y., Song J., Chang H.-m., Jameel H., 2014. Comparison of sodium carbonate-oxygen and sodium hydroxide-oxygen pretreatments on the chemical composition and enzymatic saccharification of wheat straw. *Bioresource Technology*, 161, 63-68.
- Geng W., Jin Y., Jameel H., Park S., 2015. Strategies to achieve high-solids enzymatic hydrolysis of dilute-acid pretreated corn stover. *Bioresource Technology*, 187, 43-48.
- Guragain Y.N., Wang D., Vadlani P.V., 2016. Appropriate biorefining strategies for multiple feedstocks: Critical evaluation for pretreatment methods, and hydrolysis with high solids loading. *Renewable Energy*, 96, Part A, 832-842.

- Hamre A.G., Eide K.B., Wold H.H., Sørli M., 2015. Activation of enzymatic chitin degradation by a lytic polysaccharide mono-oxygenase. *Carbohydrate Research*, 407, 166-169.
- Han M., Kang K.E., Kim Y., Choi G.-W., 2013. High efficiency bioethanol production from barley straw using a continuous pretreatment reactor. *Process Biochemistry*, 48(3), 488-495.
- Hasunuma T., Okazaki F., Okai N., Hara K.Y., Ishii J., Kondo A., 2013. A review of enzymes and microbes for lignocellulosic biorefinery and the possibility of their application to consolidated bioprocessing technology. *Bioresource Technology*, 135, 513-522.
- Hemsworth G.R., Davies G.J., Walton P.H., 2013. Recent insights into copper-containing lytic polysaccharide mono-oxygenases. *Current Opinion in Structural Biology*, 23(5), 660-668.
- Hideno A., Inoue H., Tsukahara K., Fujimoto S., Minowa T., Inoue S., Endo T., Sawayama S., 2009. Wet disk milling pretreatment without sulfuric acid for enzymatic hydrolysis of rice straw. *Bioresource Technology*, 100(10), 2706-2711.
- Huang C., Li Y.Y., Liu L.P., Wu H., Zong M.H., Lou W.Y., 2014. Kinetics and Mechanism Analysis on Microbial Oil Production by *Trichosporon fermentans* in Rice Straw Hydrolysate. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(49), 19034-19043.
- Huang H.-J., Ramaswamy S., Tschirner U.W., Ramarao B.V., 2008. A review of separation technologies in current and future biorefineries. *Separation and Purification Technology*, 62(1), 1-21.
- Inoue H., Yano S., Endo T., Sakaki T., Sawayama S., 2008. Combining hot-compressed water and ball milling pretreatments to improve the efficiency of the enzymatic hydrolysis of eucalyptus. *Biotechnology for Biofuels*, 1.
- Jin M.J., Slininger P.J., Dien B.S., Waghmode S., Moser B.R., Orjuela A., Sosal L.D., Balan V., 2015. Microbial lipid-based lignocellulosic biorefinery: feasibility and challenges. *Trends in Biotechnology*, 33(1), 43-54.
- Jönsson L.J., Martín C., 2016. Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. *Bioresource Technology*, 199, 103-112.
- Kang K.E., Han M., Moon S.-K., Kang H.-W., Kim Y., Cha Y.-L., Choi G.-W., 2013. Optimization of alkali-extrusion pretreatment with twin-screw for bioethanol production from *Miscanthus*. *Fuel*, 109, 520-526.
- Khoo H.H., 2015. Review of bio-conversion pathways of lignocellulose-to-ethanol: Sustainability assessment based on land footprint projections. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 46, 100-119.
- Khuong L.D., Kondo R., De Leon R., Kim Anh T., Shimizu K., Kamei I., 2014. Bioethanol production from alkaline-pretreated sugarcane bagasse by consolidated bioprocessing using *Phlebia* sp. MG-60. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 62-68.
- Kim Y.K., Park S.E., Lee H., Yun J.Y., 2014. Enhancement of bioethanol production in syngas fermentation with *Clostridium ljungdahlii* using nanoparticles. *Bioresource Technology*, 159, 446-450.
- Kircher M., 2015. Sustainability of biofuels and renewable chemicals production from biomass. *Current Opinion in Chemical Biology*, 29, 26-31.
- Klasson K.T., Ackerson M.D., Clausen E.C., Gaddy J.L., 1993. Biological Conversion of Coal and Coal-Derived Synthesis Gas. *Fuel*, 72(12), 1673-1678.
- Kosa M., Ragauskas A.J., 2013. Lignin to lipid bioconversion by oleaginous *Rhodococci*. *Green Chemistry*, 15(8), 2070-2074.
- Kumar P., Barrett D.M., Delwiche M.J., Stroeve P., 2009. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48(8), 3713-3729.
- Kurosawa K., Laser J., Sinskey A.J., 2015. Tolerance and adaptive evolution of triacylglycerol-producing *Rhodococcus opacus* to lignocellulose-derived inhibitors. *Biotechnology for Biofuels*, 8.
- Lawford H.G., Rousseau J.D., 1996. Studies on nutrient requirements and cost-effective supplements for ethanol production by recombinant *E. coli*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 57-8, 307-326.

- Lee J., 1997. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology*, 56(1), 1-24.
- Lee J.M., Jameel H., Venditti R.A., 2010. A comparison of the autohydrolysis and ammonia fiber explosion (AFEX) pretreatments on the subsequent enzymatic hydrolysis of coastal Bermuda grass. *Bioresource Technology*, 101(14), 5449-5458.
- Limtong S., Sringiew C., Yongmanitchai W., 2007. Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated *Kluyveromyces marxianus*. *Bioresource Technology*, 98(17), 3367-3374.
- Lin P.P., Mi L., Morioka A.H., Yoshino K.M., Konishi S., Xu S.C., Papanek B.A., Riley L.A., Guss A.M., Liao J.C., 2015. Consolidated bioprocessing of cellulose to isobutanol using *Clostridium thermocellum*. *Metabolic Engineering*, 31, 44-52.
- Liu Y.T., Wang Y.P., Liu H.J., Zhang J.A., 2015. Enhanced lipid production with undetoxified corncob hydrolysate by *Rhodotorula glutinis* using a high cell density culture strategy. *Bioresource Technology*, 180, 32-39.
- Maddipati P., Atiyeh H.K., Bellmer D.D., Huhnke R.L., 2011. Ethanol production from syngas by *Clostridium* strain P11 using corn steep liquor as a nutrient replacement to yeast extract. *Bioresource Technology*, 102(11), 6494-6501.
- Mai N.L., Ha S.H., Koo Y.M., 2014. Efficient pretreatment of lignocellulose in ionic liquids/co-solvent for enzymatic hydrolysis enhancement into fermentable sugars. *Process Biochemistry*, 49(7), 1144-1151.
- Mast B., Zohrens N., Schmidl F., Hernandez R., French W.T., Merkt N., Claupein W., Graeff-Honninger S., 2014. Lipid Production for Microbial Biodiesel by the Oleagenous Yeast *Rhodotorula glutinis* Using Hydrolysates of Wheat Straw and Miscanthus as Carbon Sources. *Waste and Biomass Valorization*, 5(6), 955-962.
- Matano Y., Hasunuma T., Kondo A., 2013. Cell recycle batch fermentation of high-solid lignocellulose using a recombinant cellulase-displaying yeast strain for high yield ethanol production in consolidated bioprocessing. *Bioresource Technology*, 135, 403-409.
- McKendry P., 2002. Energy production from biomass (Part 1): Overview of biomass. *Bioresour Technol*, 83(1), 37-46.
- Mekasha S., Forsberg Z., Dalhus B., Bacik J.P., Choudhary S., Schmidt-Dannert C., Vaaje-Kolstad G., Eijsink V.G., 2016. Structural and functional characterization of a small chitin-active lytic polysaccharide monoxygenase domain of a multi-modular chitinase from *Jonesia denitrificans*. *FEBS Lett*, 590(1), 34-42.
- Miura T., Lee S.H., Inoue S., Endo T., 2012. Improvement of enzymatic saccharification of sugarcane bagasse by dilute-alkali-catalyzed hydrothermal treatment and subsequent disk milling. *Bioresource Technology*, 105, 95-99.
- Mohammadi M., Najafpour G.D., Younesi H., Lahijani P., Uzir M.H., Mohamed A.R., 2011. Bioconversion of synthesis gas to second generation biofuels: A review. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 15(9), 4255-4273.
- Monrroy M., Ibañez J., Melin V., Baeza J., Mendonça R.T., Contreras D., Freer J., 2010. Bioorganosolv pretreatments of *P. radiata* by a brown rot fungus (*Gloeophyllum trabeum*) and ethanolysis. *Enzyme and Microbial Technology*, 47(1-2), 11-16.
- Munasinghe P.C., Khanal S.K., 2010. Biomass-derived syngas fermentation into biofuels: Opportunities and challenges. *Bioresource Technology*, 101(13), 5013-5022.
- Nguyen T.-A.D., Kim K.-R., Han S.J., Cho H.Y., Kim J.W., Park S.M., Park J.C., Sim S.J., 2010. Pretreatment of rice straw with ammonia and ionic liquid for lignocellulose conversion to fermentable sugars. *Bioresource Technology*, 101(19), 7432-7438.
- Octave S., Thomas D., 2009. Biorefinery: Toward an industrial metabolism. *Biochimie*, 91(6), 659-664.
- Olofsson K., Bertilsson M., Liden G., 2008a. A short review on SSF - an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Biotechnology for Biofuels*, 1.

- Olofsson K., Rudolf A., Liden G., 2008b. Designing simultaneous saccharification and fermentation for improved xylose conversion by a recombinant strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 134(1-2), 112-120.
- Onel O., Niziolek A.M., Floudas C.A., 2015. Integrated biomass and fossil fuel systems towards the production of fuels and chemicals: state of the art approaches and future challenges. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 9, 66-74.
- Patel A., Sindhu D.K., Arora N., Singh R.P., Pruthi V., Pruthi P.A., 2015. Biodiesel production from non-edible lignocellulosic biomass of *Cassia fistula* L. fruit pulp using oleaginous yeast *Rhodospiridium kratochvilovae* HIMPA1. *Bioresource Technology*, 197, 91-98.
- Patle S., Lal B., 2008. Investigation of the potential of agro-industrial material as low cost substrate for ethanol production by using *Candida tropicalis* and *Zymomonas mobilis*. *Biomass & Bioenergy*, 32(7), 596-602.
- Ramio-Pujol S., Ganigue R., Baneras L., Colprim J., 2015. How can alcohol production be improved in carboxydrotrophic clostridia? *Process Biochemistry*, 50(7), 1047-1055.
- Ravindran R., Jaiswal A.K., 2016. A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 199, 92-102.
- Ren N.Q., Wang A.J., Cao G.L., Xu J.F., Gao L.F., 2009. Bioconversion of lignocellulosic biomass to hydrogen: Potential and challenges. *Biotechnology Advances*, 27(6), 1051-1060.
- Ritimann S.K.M.R., Lee H.S., Lim J.K., Kim T.W., Lee J.H., Kang S.G., 2015. One-carbon substrate-based biohydrogen production: Microbes, mechanism, and productivity. *Biotechnology Advances*, 33(1), 165-177.
- Sánchez Ó.J., Cardona C.A., 2008. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology*, 99(13), 5270-5295.
- Saygin D., Gielen D.J., Draeck M., Worrell E., Patel M.K., 2014. Assessment of the technical and economic potentials of biomass use for the production of steam, chemicals and polymers. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 1153-1167.
- Singh R., Krishna B.B., Kumar J., Bhaskar T., 2016. Opportunities for utilization of non-conventional energy sources for biomass pretreatment. *Bioresource Technology*, 199, 398-407.
- Sitepu I., Selby T., Lin T., Zhu S., Boundy-Mills K., 2014. Carbon source utilization and inhibitor tolerance of 45 oleaginous yeast species. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 41(7), 1061-1070.
- Skidmore B.E., Baker R.A., Banjade D.R., Bray J.M., Tree D.R., Lewis R.S., 2013. Syngas fermentation to biofuels: Effects of hydrogen partial pressure on hydrogenase efficiency. *Biomass & Bioenergy*, 55, 156-162.
- Span E.A., Marletta M.A., 2015. The framework of polysaccharide monooxygenase structure and chemistry. *Curr Opin Struct Biol*, 35, 93-9.
- Su Y., Du R., Guo H., Cao M., Wu Q., Su R., Qi W., He Z., 2015. Fractional pretreatment of lignocellulose by alkaline hydrogen peroxide: Characterization of its major components. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 322-330.
- Subramaniam R., Dufreche S., Zappi M., Bajpai R., 2010. Microbial lipids from renewable resources: production and characterization. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 37(12), 1271-1287.
- Sun S.N., Sun S.L., Cao X.F., Sun R.C., 2016. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresource Technology*, 199, 49-58.
- Taniguchi M., Takahashi D., Watanabe D., Sakai K., Hoshino K., Kouya T., Tanaka T., 2010. Effect of steam explosion pretreatment on treatment with *Pleurotus ostreatus* for the enzymatic hydrolysis of rice straw. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(4), 449-452.
- Taylor G., 2008. Biofuels and the biorefinery concept. *Energy Policy*, 36(12), 4406-4409.

- Travaini R., Martín-Juárez J., Lorenzo-Hernando A., Bolado-Rodríguez S., 2016. Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited. *Bioresource Technology*, 199, 2-12.
- Unrean P., Khajeeram S., Laoteng K., 2016. Systematic optimization of fed-batch simultaneous saccharification and fermentation at high-solid loading based on enzymatic hydrolysis and dynamic metabolic modeling of *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(5), 2459-2470.
- Vlasenko E.Y., Ding H., Labavitch J.M., Shoemaker S.P., 1997. Enzymatic hydrolysis of pretreated rice straw. *Bioresource Technology*, 59(2-3), 109-119.
- Wang B.X., Rezenom Y.H., Cho K.C., Tran J.L., Lee D.G., Russell D.H., Gill J.J., Young R., Chu K.H., 2014. Cultivation of lipid-producing bacteria with lignocellulosic biomass: Effects of inhibitory compounds of lignocellulosic hydrolysates. *Bioresource Technology*, 161, 162-170.
- Wang R.F., Unrean P., Franzen C.J., 2016. Model-based optimization and scale-up of multi-feed simultaneous saccharification and co-fermentation of steam pre-treated lignocellulose enables high gravity ethanol production. *Biotechnology for Biofuels*, 9.
- Wells T., Wei Z., Ragauskas A., 2015. Bioconversion of lignocellulosic pretreatment effluent via oleaginous *Rhodococcus opacus* DSM 1069. *Biomass & Bioenergy*, 72, 200-205.
- Xiros C., Christakopoulos P., 2009. Enhanced ethanol production from brewer's spent grain by a *Fusarium oxysporum* consolidated system. *Biotechnology for Biofuels*, 2.
- Xu D.S., Lewis R.S., 2012. Syngas fermentation to biofuels: Effects of ammonia impurity raw syngas on hydrogenase activity. *Biomass & Bioenergy*, 45, 303-310.
- Yasin M., Jeong Y., Park S., Jeong J., Lee E.Y., Lovitt R.W., Kim B.H., Lee J., Chang I.S., 2015. Microbial synthesis gas utilization and ways to resolve kinetic and mass-transfer limitations. *Bioresource Technology*, 177, 361-374.
- Yu H., Zhang X., Song L., Ke J., Xu C., Du W., Zhang J., 2010. Evaluation of white-rot fungi-assisted alkaline/oxidative pretreatment of corn straw undergoing enzymatic hydrolysis by cellulase. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(6), 660-664.
- Yu X.C., Zheng Y.B., Dorgan K.M., Chen S.L., 2011. Oil production by oleaginous yeasts using the hydrolysate from pretreatment of wheat straw with dilute sulfuric acid. *Bioresource Technology*, 102(10), 6134-6140.
- Zavrel M., Bross D., Funke M., Büchs J., Spiess A.C., 2009. High-throughput screening for ionic liquids dissolving (ligno-)cellulose. *Bioresource Technology*, 100(9), 2580-2587.
- Zerva A., Savvides A.L., Katsifas E.A., Karagouni A.D., Hatzinikolaou D.G., 2014. Evaluation of *Paecilomyces variotii* potential in bioethanol production from lignocellulose through consolidated bioprocessing. *Bioresource Technology*, 162, 294-299.
- Zhao C., Ding W., Chen F., Cheng C., Shao Q., 2014. Effects of compositional changes of AFEX-treated and H-AFEX-treated corn stover on enzymatic digestibility. *Bioresource Technology*, 155, 34-40.
- Zhao X., Wu S.G., Hu C.M., Wang Q., Hua Y.Y., Zhao Z.B.K., 2010. Lipid production from Jerusalem artichoke by *Rhodosporidium toruloides* Y4. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 37(6), 581-585.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL ou son DOI)