

RAPPORT DE SYNTHÈSE - Phases 1 et 2

**Référence du projet : D31-1397 eBIO2CHEM – Phase 1
D65-1454 eBIO2CHEM – Phase 2**

**Titre du projet : Fractionnement et conversion de résidus de
céréales et plantes celluloses en molécules
d'intérêt: tensio-actifs et carboxylates plateforme
à moyennes chaînes**

Date de démarrage et de fin du projet :

Phase 1 du 01/10/2018 au 30/11/2022

Phase 2 du 01/02/2025 au 31/01/2026

Durée du projet : 62 mois (avec interruptions)

Organismes partenaires du projet

Nom partenaire 1 : UCLouvain, Earth & Life Institute, Laboratoire de Génie biologique et bioraffinage

Adresse internet partenaire 1 : <https://uclouvain.be/en/research-institutes/eli/elim/gebi.html>

Contact : GERIN, Patrick, patrick.gerin@uclouvain.be

Nom partenaire 2 - Phase 1 : Centre wallon de Recherches agronomiques, CRA-W

Adresse internet partenaire 2 :

<https://www.cra.wallonie.be/fr/unite-valorisation-des-produits-de-la-biomasse-et-du-bois>

Contact : GODIN, Bruno, b.godin@cra.wallonie.be

Nom partenaire 3 - Phase 1 : Haute Ecole de la Province de Hainaut, HEPH-Condorcet

Adresse internet partenaire 3 : <https://www.condorcet.be/>

Contact : LANTERBECQ, Deborah, deborah.lanterbecq@condorcet.be

Contact volet scientifique : MOREAU, Benoît, lipazben007@gmail.com

Nom partenaire 2 - Phase 2 : CeREF-Agronomique - HELHa

Adresse internet partenaire 2 phase 2 : <https://ceref.helha.be/agronomique/>

Contact : VELINGS, Nicolas, velingsn@helha.be

Contact volet scientifique : MOREAU, Benoît, lipazben007@gmail.com

1. Contexte

Dans le contexte énergétique, environnemental et socio-économique actuel, il est indispensable de trouver des alternatives à la pétrochimie. L'une des voies possibles est le développement de procédé de bioraffinage. En effet, ceux-ci peuvent produire les molécules similaires à la pétrochimie mais utilisant comme matière première de la biomasse, matière organique rapidement renouvelable. Afin de ne pas entrer en compétition avec le domaine alimentaire, les résidus ou déchets organiques produits par l'agro-industrie sont devenu les substrats les plus intéressants. En effet, de grandes quantités de matières organiques non valorisées sont produites par les acteurs agro-industriels et sont actuellement considéré comme résidus ou « déchet organique ». Ces résidus peuvent également provenir soit de productions agricoles à destination alimentaire, soit de mesures agri-environnementales ou de cultures dédiées obtenues en conditions pédoclimatiques peu favorables et/ou nécessitant peu d'intrants.

Les drêches de (micro-)brasserie et les sons de céréales sont des résidus types utilisables pour mettre au point des procédés de bioraffinage ne faisant pas appel à l'utilisation de solvants ou réactifs toxiques tout en visant la production de molécules biobasées, peu toxiques et pouvant substituer les produits issus de la pétrochimie.

2. Objectifs

La recherche visait à mettre au point les étapes-clés et originales d'une filière intégrée de valorisation des drêches de (micro-)brasseries et des sons de blé en, d'une part, des tensio-actifs biosourcés et biodégradables, et d'autre part, des carboxylates à moyenne chaîne, obtenus par fermentation. Les étapes sur lesquelles s'est focalisée la recherche s'intègrent dans une filière incluant le recyclage des nutriments et valorisation de tous les résidus.

Afin de maximiser la production des différents produits désirés, la recherche visait le fractionnement-solubilisation de la biomasse par une de solubilisation thermique des protéines (<100°C), supplémentée (ou non) d'enzymes (protéases & amylases), suivie d'une de solubilisation des fibres résiduelles « à l'eau sous-critique » (>100°C), supplémenté (ou non) de catalyseurs acides ou basiques. La caractérisation des fractions visait à déterminer l'aptitude des fractions à être convertie par les différentes voies de valorisation envisagées.

Le projet visait ensuite la synthèse d'une nouvelle gamme de tensio-actifs, à partir de la fraction protéique, grâce à une lipase immobilisée, soit par estérification d'acides aminés (ou peptides) et d'alcools gras, soit par amidation d'acides aminés (ou peptides) et d'acides gras. La première étape était de valider l'approche à partir de réactifs purs. La seconde était de transposer l'approche aux acides aminés et peptides obtenus par hydrolyse des drêches. La troisième objectif était d'assurer le recyclage de la lipase immobilisée, pour augmenter la rentabilité du procédé.

Le projet visait enfin la valorisation des fractions résiduelles en carboxylates à moyenne chaîne par fermentation microbienne. Les objectifs visaient à :

1. identifier les conditions physicochimiques optimales de fermentation afin de favoriser la production spécifique de carboxylates à moyenne chaîne;
2. déterminer le bénéfice ou non des prétraitements hydrothermaux (catalysés ou non) sur la fermentescibilité des fractions prétraitées;
3. identifier les microorganismes impliqué dans la fermentation et l'élongation de chaîne;
4. pré-dimensionner une unité pilote industrielle de valorisation de drêche de brasserie en carboxylates à moyenne chaîne.

3. Conclusions synthétiques d'interprétation des résultats des travaux

Partenaire 2 - phase 1. Fractionnement des substrats et caractérisation des extraits: prétraitements hydrothermaux alcalins

Les prétraitements réalisés ont permis de confirmer l'intérêt du prétraitement alcalin à l'hydroxyde de potassium dilué tant pour les drêches de brasserie que pour les sons de froment, ainsi que l'évolution vers une matière moins récalcitrante à l'hydrolyse enzymatique des polysaccharides. Les drêches de brasserie présentent une récalcitrance à cette hydrolyse enzymatique un peu plus élevée que les sons de froment. La concentration en hydroxyde est le facteur qui a le plus d'impact sur la solubilisation des différents biopolymères et sur la récalcitrance à l'hydrolyse enzymatique des polysaccharides. Le prétraitement optimal pour les deux matières a été obtenu à 80°C avec de l'hydroxyde de potassium 0,25 M avec temps d'incubation de 120 minutes. Des conditions plus sévères de prétraitement n'apportent pas de gains assez conséquents au niveau de la solubilisation des biopolymères et sont négatifs au niveau de la balance libération-dégradation des hydrates de carbone. Des essais de prétraitement à très petite échelle permettant de suivre la viscosité ont été réalisés sur les drêches de brasserie. Ils montrent qu'une incubation de 240 min à 80°C avec de l'hydroxyde de potassium 0,25 M, est encore plus favorable qu'une incubation de 120 min.

Partenaire 3 - phase 1 et partenaire 2 - phase 2. Synthèses de tensio-actifs à base d'acides aminés

Bien que la synthèse de tensio-actifs à partir de acides aminés issus de la drêche de brasserie n'ait pas pu être réalisée, des avancées ont pu être obtenues avec les acides aminés purifiés. Nous avons démontré la faisabilité de la synthèse de lipo-amino acides par greffage d'un acide gras sur la fonction amine de l'acide aminé et par estérification d'un alcool gras sur la fonction carboxylique de l'acide aminé. Nous avons aussi démontré l'importance du choix du solvant pour réaliser ce greffage, le solvant devant solubiliser simultanément un acide aminé polaire, hydrophile, et un alcool ou acide gras, apolaire, hydrophobe. Nous avons réussi à l'aide du solvant « vert » 2 méthyle tétrahydrofurane, issu du bioraffinage du furfural. Les rendements enregistrés pour ces synthèses sont encourageants (77% de N acylation après 48h de réaction), et ouvrent la voie à un développement de cet axe de recherche en vue d'une phase pilote.

Partenaire 1 Conversion des fractions fermentescibles en carboxylates à moyennes chaînes par fermentation microbienne

La drêche de brasserie est une biomasse humide (composé de plus 75% d'eau) fermentescible, nécessitant une stabilisation afin de pouvoir être conservée en gardant une composition compatible avec sa conversion en carboxylates. A l'échelle du laboratoire, nous avons montré qu'une conservation par congélation était préférable par rapport au séchage de la biomasse. Cependant, d'un point de vue industriel, l'ensilage semble plus adapté. En effet, il permettrait d'avoir une triple action bénéfique, 1) la stabilisation au stockage de la biomasse par acidification, 2) servirait de premier prétraitement biologique (fermentation lactique) et 3) la production d'intermédiaires essentiels (acide lactique, éthanol, acide acétique) à l'élongation de chaîne microbienne.

L'hydrolyse des macromolécules est un des facteurs limitants dans le processus de valorisation de biomasse complexe par fermentation. La phase 1 du projet eBIO2CHEM a permis de montrer que les prétraitements hydrothermaux à température supérieure à 140°C (WP1) sont défavorables et diminuent la digestibilité de la biomasse. L'alcalinité de la solution de prétraitement est le facteur ayant eu l'impact le plus important sur la digestibilité totale de la biomasse. En lien avec le WP1, un prétraitement alcalin à basse température (80°C), de courte durée (120°C) est apparu comme un optimum apportant un gain de 10 jours lors de l'étape de fermentation acidogène, par comparaison avec un substrat non prétraité. Un procédé de neutralisation de la biomasse alcalinisée a été mis au point avec un sous-produit de fermentation, permettant la fermentation directe de la biomasse traitée.

Nous avons montré que la conversion de drêche de brasserie en carboxylates à moyenne chaîne est réalisable, même sans prétraitement de la biomasse. Lorsqu'aucun prétraitement hydrothermal n'est appliqué à la biomasse, le rendement de conversion en métabolites connus atteint 25% $\frac{DCO_Metabo}{DCO_biomasse_IN}$. Les carboxylates à moyenne chaîne représentent 14% de ces métabolites identifiés. Le prétraitement hydrothermal augmente principalement la vitesse de fermentation permettant de passer de 14 à 4 jours de fermentation pour obtenir les mêmes rendements de conversion. La phase 1 du projet a également permis de mettre en évidence les conditions physicochimiques du milieu de fermentation favorisant spécifiquement la conversion de la biomasse en carboxylates à moyenne chaîne. En effet, des rendements de conversion de 30% $\frac{Métabolites_tot}{DCO_IN}$ ont pu être atteints, avec plus de 38% $\frac{DCO_MoyChaîne}{DCO_Metabo_tot}$ de conversion en carboxylates à moyennes chaîne.

Deux facteurs limitant la conversion continue de drêche de brasserie en carboxylates à moyenne chaîne ont pu être identifiés. Afin d'augmenter et de rendre plus robuste la conversion biomasse-carboxylates à moyenne chaîne, il est nécessaire de développer un procédé multi-étape et de connaître les microorganismes impliqués dans chacune d'elle. Il comprend l'ensilage, le prétraitement hydrothermal alcalin, une neutralisation de la biomasse prétraitée, deux étapes successives de fermentation ainsi que l'extraction des métabolites d'intérêt. Il est nécessaire d'utiliser deux étapes de fermentation afin d'adapter les conditions physicochimiques essentielles à chaque étape de fermentation qui permettra aux microorganismes d'intérêt de se développer et de métaboliser leur substrat respectif en molécules désirées.

La phase deux du projet a permis de déterminer les rendements de conversion de:

1. la fermentation acidogène alimentée de manière semi-continue en drêche de brasserie, générant les carboxylates à courte chaîne;
2. la fermentation d'élongation de chaîne microbienne visant à produire spécifiquement les carboxylates à moyenne chaîne, à partir des carboxylates à courte chaînes produits à l'étape précédente. .

Les différentes bactéries impliquées dans la fermentation acidogène ainsi que les bactéries supposées responsables de la production spécifique de carboxylates à moyenne chaîne ont été identifiées. Finalement, les bilans de masse, énergétique et économique ont été évalués sur base des résultats expérimentaux obtenus. Ceux-ci nous ont permis de conceptualiser et pré-dimensionner un dispositif de taille pilote industriel de valorisation de drêche de brasserie pour une brasserie générant annuellement 400 tonne de drêche.

4. Impact actuel sur l'agriculture wallonne et perspectives futures de cet impact

La technique de prétraitement alcalin à 80°C de drèches et sons est immédiatement applicable, et extensible à des pailles de céréales et rafles de maïs, en vue d'améliorer leur digestibilité en biométhanisation. L'alcalinité nécessaire peut être obtenue à partir de cendres de bois ou agro-combustibles disponibles au sein du secteur agricole, au lieu de réactifs de synthèse.

Les autres impacts dépendent de la poursuite de la recherche. On peut cependant prédire une meilleure valorisation des drèches et sons en carboxylates, donc une meilleure rentabilité de la filière agriculture-brasserie ainsi que l'agriculture-meunerie. Les résultats obtenus laissent penser que d'autres substrats agricoles très fermentescibles pourraient alimenter la production de carboxylates, offrant des débouchés à d'autres productions: herbe, cultures intercalaires, pulpes de betteraves, pulpes et racines de chicorée etc.

En ce qui concerne la production de tensio-actifs biosourcés et biodégradables, des progrès plus substantiels restent à faire pour arriver à un procédé transposable industriellement. Même si le défi reste plus important, le gain de valeur ajoutée par unité de produit formé offre un potentiel nettement supérieur. Outre les drèches et sons, d'autres produits agricoles riches en protéines pourraient alimenter cette filière, comme les tourteaux de colza ou farines de pois.

Ces différentes perspectives offrent un potentiel d'apporter de la valeur ajoutée à des résidus ou même à des produits directs issus de la production agricole, donc d'améliorer la rentabilité des différentes filières.