

## Valorisation des ressources renouvelables : de la production d'éthanol au développement de nouveaux bioproduits

Nicolas Lopes Ferreira

IFP, Département de Biotechnologie, 1 et 4 avenue de Bois-Préau, 92852 Rueil-Malmaison Cedex, France

Auteur correspondant : Nicolas Lopes Ferreira, [nicolas.lopes-ferreira@ifp.fr](mailto:nicolas.lopes-ferreira@ifp.fr)

Reçu le 19 mai 2008

**Résumé** – Les organismes vivants en général, et les plantes cultivées en particulier, sont les réservoirs d'une quantité impressionnante de molécules ayant des propriétés variées et impliquées à tous les niveaux (structure, stockage, activité biologique etc.). Longtemps utilisée dans son intégralité ou après des transformations élémentaires pour l'alimentation, le chauffage ou encore le papier, la matière première végétale entre maintenant dans une nouvelle ère : celle de la bioraffinerie ou raffinerie du végétal. Ce concept, né dans les années 90, se base sur le modèle de la raffinerie pétrolière. L'agriculture génère en effet des tonnes de co-produits qui, pendant longtemps, furent considérés comme des déchets. Mais la valorisation de ces sous-produits est aujourd'hui un enjeu économique et écologique, l'utilisation de matières premières renouvelables en lieu et place d'équivalents fossiles contribue en effet à la préservation de l'environnement par réduction des émissions de CO<sub>2</sub>, principal gaz à effet de serre de la planète.

L'objectif est donc de fractionner la plante ou ses co-produits, puis de purifier et transformer les différents éléments afin d'obtenir soit des biocarburants soit ce qu'on appelle aujourd'hui des « bioproduits » comme les bioplastiques ou les tensioactifs. Dans cette perspective, les champignons filamenteux, capables de coloniser une grande variété de végétaux, produisent de nombreuses enzymes adaptées à la modification de ce type de substrats. L'exemple, peut-être le plus avancé industriellement aujourd'hui, est la fabrication de bioéthanol de seconde génération c'est-à-dire à partir de matériaux organiques renouvelables. Il comprend notamment une étape d'hydrolyse enzymatique de la biomasse nécessitant différentes cellulases produites par des champignons de type *Trichoderma*. Cette première étape ouvre la voie vers une diversification des ressources énergétiques dans le domaine du transport et contribue à l'essor de la chimie végétale qui a pour but de se substituer partiellement à la pétrochimie.

**Mots clés** : Bioéthanol / lignocellulose / cellulases / champignon / *Trichoderma reesei* / bioproduits

**Abstract** – Industrial exploitation of renewable resources: from ethanol production to bioproducts development.

Plants, which are one of major groups of life forms, are constituted of an amazing number of molecules such as sugars, proteins, phenolic compounds etc. These molecules display multiple and complementary properties involved in various compartments of plants (structure, storage, biological activity etc.). The first uses of plants in industry were for food and feed, paper manufacturing or combustion. In the coming decades, these renewable biological materials will be the basis of a new concept: the "biorefiner" i.e. the chemical conversion of the whole plant to various products and uses. This concept, born in the 90ies, is analogous to today's petroleum refinery, which produces multiple fuels and derivative products from petroleum. Agriculture generates lots of co-products which were most often

wasted. The rational use of these wasted products, which can be considered as valuable renewable materials, is now economically interesting and will contribute to the reduction of greenhouse gas emissions by partially substituting for fossil fuels.

Such a substitution has one important objective: extracting the most interesting chemical substructures from biological waste products and transforming them into biofuels and new industrial products named "bioproducts". These compounds, such as bioplastics or biosurfactants, can replace equivalent petroleum derivatives. Towards that goal, lots of filamentous fungi, growing on a broad range of vegetable species, are able to produce enzymes adapted to the modification of these type of substrates. The best example, at least the more industrially developed to date, is the second generation biofuel technology using cellulose as a raw material. This process includes an enzymatic hydrolysis step which requires cellulases secreted from *Trichoderma* fungal species. This industrial development of a renewable energy will contribute to the diversification of energy sources used for transport and to the development of green chemistry which will partially substitute petrochemicals.

**Key words:** Bioethanol / lignocellulose / cellulases / fungi / *Trichoderma reesei* / bioproducts

---

## Introduction

Si le XX<sup>e</sup> siècle a été marqué par la surexploitation des ressources énergétiques fossiles pour le développement économique des sociétés modernes, celui qui lui succède va voir se développer toute une panoplie de voies de substitution à partir de matières premières renouvelables. Sur le plan mondial, en 2000, 80 % de la consommation d'énergie marchande était fournie par les combustibles fossiles à savoir le charbon, le pétrole et le gaz. Ils présentent l'énorme avantage de fournir de l'énergie sous des formes très concentrées, facilement transportables et peu coûteuses. Le mieux placé sous cet angle est la ressource pétrolière. Cette dernière fut, pendant des décennies, le principal socle du développement industriel et social des pays développés et cette particularité a engendré une situation telle qu'aujourd'hui aucune ressource énergétique renouvelable n'est capable de se substituer à elle seule à cet « or noir ». Or l'épuisement prévisible des combustibles fossiles, et leur influence sur le réchauffement climatique par la production de gaz à effet de serre (CO<sub>2</sub>) issu de la combustion du carbone fossile, stimulent aujourd'hui la recherche d'alternatives. De plus, les ruptures économiques liées à la raréfaction des combustibles fossiles n'attendront pas la fin du siècle : les modèles montrent que la production mondiale de pétrole culminera à l'horizon 2020-2030, accentuant les tensions économiques et politiques qui émergent aujourd'hui.

Une de ces voies de substitution, faisant actuellement l'objet de nombreux travaux de recherche, consiste donc en l'utilisation de la ressource végétale, notamment la ressource lignocellulosique. Elle est en effet la source de carbone renouvelable la plus abondante de la planète. Les fibres végétales sont d'ailleurs déjà très présentes dans notre quotidien

et plus particulièrement dans les domaines de la construction de l'ameublement, du textile, du papier ou encore du carton et ses dérivés. Les connaissances scientifiques acquises sur les plantes et les technologies de transformation permettent aujourd'hui d'envisager de remplacer une partie des produits dérivés des matières fossiles dans des domaines aussi variés que l'énergie, les matériaux ou la chimie fine. Les recherches en cours s'attachent ainsi à valoriser la plante entière et l'exemple peut-être le plus abouti aujourd'hui est la transformation des matériaux lignocellulosiques en éthanol-carburant, après hydrolyse enzymatique et fermentation de leurs sucres constitutifs. Le développement de cette production de bioéthanol à partir de substrats lignocellulosiques a fait l'objet de nombreux travaux de recherche depuis les années 1970 (Lee, 1997 ; Mielenz, 2001 ; Zaldivar *et al.*, 2001) et répond maintenant aux directives européennes qui souhaitent une incorporation de 10 % de biocarburants dans l'essence et le gazole en 2020. L'éthanol devrait ainsi représenter l'essentiel des biocarburants présents dans les essences. Parallèlement, de nouvelles voies de conversion de la ressource lignocellulosique se développent pour fabriquer d'autres « bioproducts » comme les bioplastiques, les tensioactifs ou encore les agromatériaux. L'utilisation du végétal à des fins énergétiques ne procure qu'une faible valeur ajoutée, alors que ses utilisations non énergétiques sont à ce point de vue plus intéressantes. Une modalité importante de la substitution des produits pétroliers par des bioproducts est qu'elle ne s'effectue habituellement pas à l'identique comme c'est le cas par exemple de l'éthanol remplaçant l'essence ou les esters méthyliques d'huile végétale à la place du diesel. Ces bioproducts devront donc être développés en fonction des besoins. Cet article s'attachera donc dans un premier temps à démontrer le potentiel de la ressource végétale et

les différentes enzymes fongiques pouvant servir à sa conversion. Les différentes valorisations seront ensuite détaillées en prenant comme exemple la production de bioéthanol de seconde génération.

### La biomasse végétale : une structure riche et complexe

La paroi végétale est constituée par trois composants principaux : la cellulose, les hémicelluloses et les lignines. En moyenne, la cellulose représente environ 40 % de la paroi végétale, les hémicelluloses 30 % et les lignines environ 20 % mais ces taux varient énormément d'une espèce à l'autre et d'un tissu à l'autre.

La cellulose est un polymère linéaire composé uniquement de résidus D-glucopyranose reliés par des liaisons osidiques  $\beta$ -1,4. Selon l'origine végétale, le degré de polymérisation de la cellulose est généralement compris entre 2000 et 8000 mais peut atteindre 15 000 comme dans le cas du coton (Barnoud, 1980; Figure 1). Par l'intermédiaire de liaisons hydrogène intermoléculaires entre deux résidus de glucose issus de chaînes adjacentes, la cellulose adopte des structures en ruban très stables. Ces chaînes s'organisent parallèlement pour former des microfibrilles comprenant des zones rigides très cristallines et des zones amorphes autorisant une certaine flexibilité. Cette structure contribue à la stabilité et la rigidité de la cellulose, et de ce fait, à celles de la plante entière (Atalla, 1999).

Les hémicelluloses (Fig. 1C), selon Wilkie (1979), regroupent l'ensemble des polysaccharides des végétaux ayant une masse moléculaire relativement basse, d'une centaine de résidus environ, et qui s'associent à la fois avec la cellulose et la lignine pour former la paroi végétale (Das *et al.*, 1984). De manière générale, dans la matière lignocellulosique, on distingue : les arabino-glucurono-xylanes, constitués de chaînes principales de résidus xylose liés entre eux par des liaisons  $\beta$ -1-4 et ramifiées par des résidus arabinose ou acide glucuronique, les galacto-gluco-mannanes, composés de résidus de mannose et de glucose ayant une structure linéaire ou faiblement branchée et les glucurono-xylanes comprenant une chaîne principale de résidus xylose liés entre eux par des liaisons  $\beta$ 1-4, ramifiée *via* des liaisons  $\alpha$  1-2 par des résidus d'acide 4-O-méthyl- $\alpha$ -D-glucuronique (Joseleau, 1980).

Le dernier constituant, la lignine, comprend des hétéropolymères de très hautes masses moléculaires, extrêmement ramifiés et réticulés. Très résistantes à la compression, ces structures phénoliques confèrent au végétal sa solidité ainsi qu'un pouvoir d'imperméabilisation. On trouve ainsi des parois cellulaires imprégnées de lignine dans les tissus servant au soutien de la plante (sclérenchyme) ou au

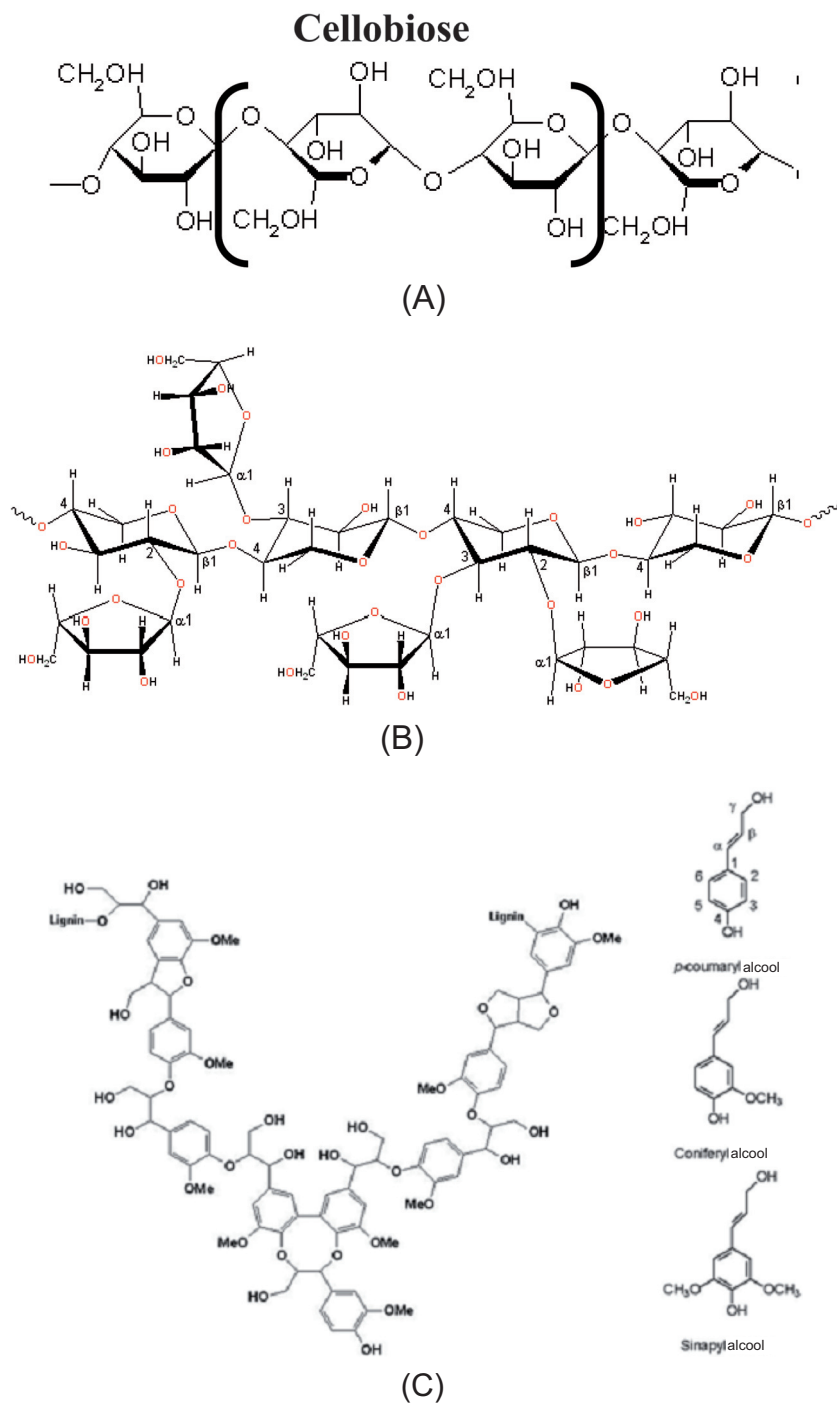
transport de l'eau et des sels minéraux (xylème). Les lignines sont composées majoritairement de trois dérivés du phénylpropane : les alcools coniférylique, p-coumarylique et sinapiques (Fig 1B). La quantité de chaque unité varie de façon importante en fonction de la lignée végétale (angiosperme, gymnosperme, etc.), l'espèce, l'organe et le tissu. Ces trois alcools phénoliques peuvent former de nombreuses liaisons entre eux et créer une lignine hyper-ramifiée (Fig. 1B).

L'ensemble cellulose, hémicellulose, lignine s'imbrique ainsi pour former des réseaux pluristratifiés composé d'une matrice amorphe lignine-hémicellulose enrobant et incrustant une armature fibrillaire de cellulose. La disposition et l'orientation des microfibrilles de cellulose par rapport à l'axe de la cellule permettent de définir, en partant de la zone la plus externe de la cellule vers son centre, trois couches intimement liées (Roland *et al.*, 1995; Robert & Catesson, 2000). La première couche est appelée lamelle moyenne, elle correspond à la zone commune à deux cellules voisines. La seconde couche est nommée paroi primaire; souple et extensible, elle permet l'allongement cellulaire dans la cellule jeune et précède la paroi secondaire, mise en place à la fin de l'allongement cellulaire (Figure 2).

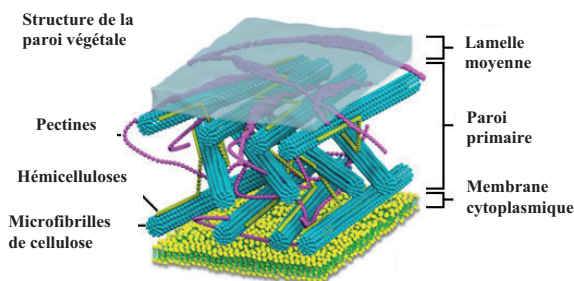
### Les enzymes fongiques nécessaires à la conversion du végétal

Le substrat lignocellulosique possède donc une structure complexe entraînant un accès à la cellulose difficile. Un grand nombre d'organismes vivants ont développé des capacités lignocellulolytiques comme les protozoaires ou certaines bactéries, mais les plus importants sont les champignons. La plupart des espèces fongiques, se développant sur cellulose, secrètent en effet des enzymes libres directement dans le milieu, et ce en quantité plus ou moins importante. Parmi eux, *Trichoderma reesei* est une des espèces les plus intéressantes et les plus étudiées en vue de son utilisation pour le procédé de conversion de la biomasse. De nombreux travaux, incluant des modifications génétiques, ont même permis d'améliorer ses capacités de sécrétion déjà très importantes pour créer des souches utilisables dans des procédés industriels de production d'enzymes (Durand *et al.*, 1988). Ces souches modifiées sont capables de produire des concentrations d'enzymes cellulolytiques et hémicellulolytiques actives pouvant aller de 40 à 100 g.L<sup>-1</sup>. Les enzymes impliquées dans la dégradation des substrats lignocellulosiques sont nombreuses : on distingue principalement les cellulases, les hémicellulases, mais il existe aussi des enzymes lignolytiques (les ligninases) et d'autres enzymes auxiliaires spécifiques.

Les cellulases et hémicellulases sont des glycoside-hydrolases (ou glycozymes) qui catalysent, de façon



**Fig. 1. Représentation schématique des constituants d'une paroi végétale.** **A.** Schéma d'une unité cellobiose, correspondant à un dimère de glucose. **B.** Structure d'une lignine, macromolécule composée ici de trois alcools et formant une structure hyper-ramifiées. (Source : <http://www.steve.gb.com/science/molecules.html>) **C.** Exemple d'hémicellulose : l'arabinoxylane, composé de résidus  $\alpha$ -L-arabinofuranose liés en  $\beta$ -1-3 ou  $\beta$ -1-2 à une chaîne polymérique de D-xylopyranose.



**Fig. 2.** La paroi végétale (Source : <http://micro.magnet.fsu.edu/cells/plants/cellwall.html>).

générale, l'hydrolyse des oligo- et polysaccharides (Gilbert & Hazlewood, 1993; Tomme *et al.*, 1995). Elles regroupent les endoglucanases processives ou non processives, capable d'hydrolyser les liaisons glucosidiques  $\beta$ -1,4 de la chaîne polymérique de glucose (Béguin & Aubert, 1994; Haigler & Weimer, 1991; Tomme *et al.*, 1995). La plupart d'entre elles ont une structure modulaire comprenant plusieurs domaines structuraux et fonctionnels. Le modèle « domaine catalytique – domaine d'accrochage à la cellulose » (ou CBM pour *carbohydrate binding module*) est le plus souvent rencontré pour les systèmes excrétés. Les CBM facilitent l'hydrolyse de la cellulose en assurant l'ancrage du site catalytique sur le substrat. Les endoglucanases non processives hydrolysent la chaîne de cellulose au sein des régions amorphes de la cellulose pour générer deux nouveaux brins. Les exoglucanases (rigoureusement appelées aussi endoglucanases processives), quant à elles, peuvent hydrolyser la cellulose par les extrémités réductrices et non réductrices de ces nouveaux brins. Chez *T. reesei*, deux endoglucanases processives sont sécrétées majoritairement, il s'agit des cellobiohydrolases I et II. La synergie d'action entre ces deux types d'enzymes permet une hydrolyse plus rapide de la cellulose (Figure 3), jusqu'à réduction complète de celle-ci en oligosaccharides (majoritairement du cellobiose).

On considère également les  $\beta$ -glucosidases comme faisant partie des cellulases. Ces enzymes clivent les extrémités non réductrices des résidus  $\beta$ -D-glucosides des oligosaccharides (dont le cellobiose) obtenus après l'action des endoglucanases et des cellobiohydrolases.

Les hémicellulases sont essentielles pour pouvoir accéder à la cellulose particulièrement liée aux hémicelluloses. La dégradation totale des hémicelluloses implique un très grand nombre d'enzymes. Celles-ci présentent des spécificités différentes selon la composition et le type de liaison reliant les constituants de l'hémicellulose. Il existe plusieurs types d'activités (Coughlan & Hazelwood, 1993; Eriksson *et al.*, 1990) : certaines enzymes coupent la chaîne principale (endo 1-4  $\beta$ -xylanases), d'autres coupent les ramifications (acétyl xylan estérase;

$\alpha$ -L-arabinofuranosidase) et les  $\beta$ -D-xylosidases sont spécifiques des oligosaccharides solubles.

Les lignines sont des composés très complexes et leur dégradation est réservée à un certain type d'organismes (les pourritures blanches). Ce sont généralement des métallo-enzymes qui vont oxyder les phénols composant les chaînes ramifiées des lignines. Les laccases (p-diphénol : O<sub>2</sub> oxydoréductases) sont des enzymes à cuivre qui oxydent les polyphénols en utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons. La manganèse-peroxydase (MnP) est une peroxydase à fer (III) hémique, dont l'activité biologique consiste, conjointement avec la lignine peroxydase, à dépolymériser la lignine. La dégradation de la lignine libère un grand nombre de composés aromatiques mais sert surtout au microorganisme à rendre la cellulose encore plus accessible pour l'action des cellulases et des hémicellulases.

Afin de rendre la cellulose encore plus accessible aux cellulases, les microorganismes vont jusqu'à produire des enzymes extrêmement spécifiques d'un substrat. C'est le cas des carbohydrate estérases. Les chaînes ramifiées du xylane sont composées de sucres mais aussi de résidus acides (acides acétique, férulique [4-hydroxy-3-méthoxycinnamique] ou p-coumarique [4-hydroxycinnamique]) qui forment des liaisons esters avec les groupements phénoliques de la lignine. Ces estérases vont permettre de cliver les liaisons entre les hémicelluloses et la lignine.

Toutes ces enzymes fongiques se retrouvent donc sécrétées dans le milieu, dans des proportions pouvant varier en fonction de l'inducteur, mais généralement adaptées à la nature du substrat. Des cocktails industriels de *T. reesei* sont couramment utilisés en laboratoire pour étudier leur capacité à convertir les matières premières végétales. L'ensemble des cellulases et hémicellulases connues a été classé parmi les familles de glycoenzymes en fonction de leur séquence en acides aminés (Henrissat *et al.*, 1989, 1995, 1999). La base de données CAZy (Carbohydrate-Active enZymes, [http://protect.kern-1667em\relax\protect.kern-1667em\relax://www.cazy.org](http://protect.kern-1667em\relax\protect.kern-1667em\relax\protect.kern-1667em\relax://www.cazy.org)) rassemble les principales données disponibles sur l'ensemble des enzymes participant à la dégradation d'oligo- et de polysaccharides. Actuellement plus de 280 familles de glycoenzymes sont recensées couvrant, entre autres, les glycoside hydrolases (GHs), les polysaccharide lyases (PLs), les estérases agissant sur les sucres (carbohydrate estérases ou CEs).

### Un exemple d'application : la production d'éthanol de seconde génération

À la suite des crises pétrolières des années 1970, les biocarburants ont été perçus dans de nombreux

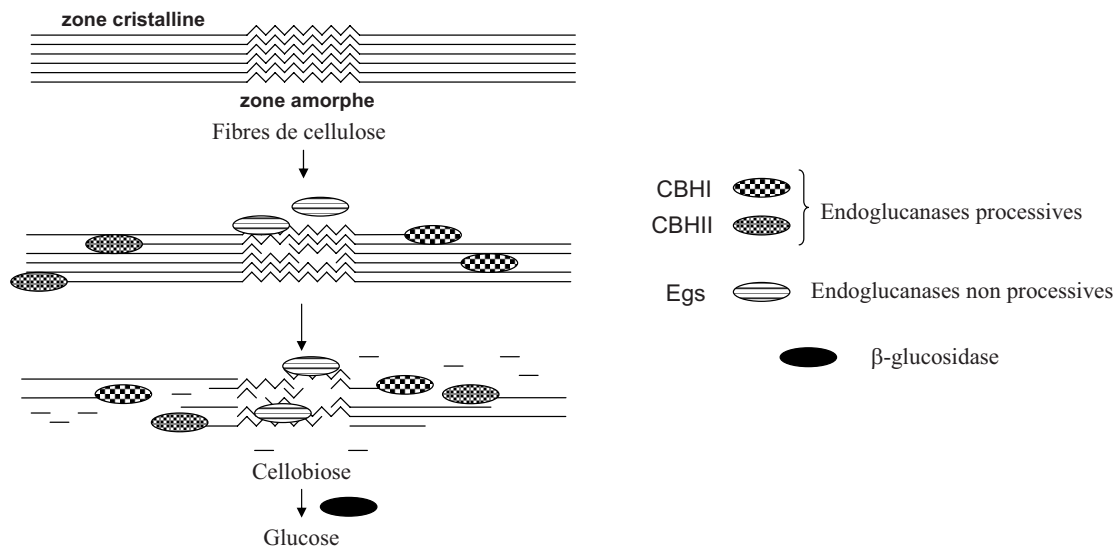


Fig. 3. La dégradation enzymatique de la cellulose cristalline.

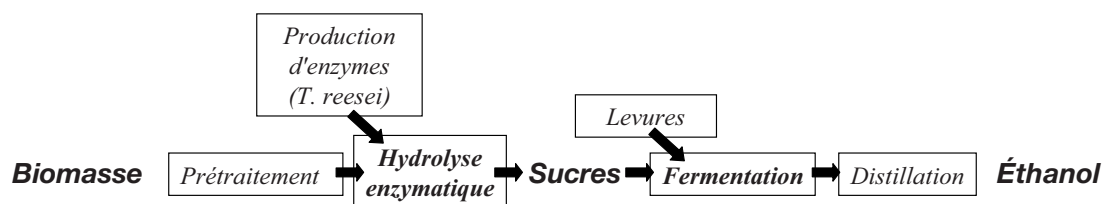


Fig. 4. Schéma de conversion d'une biomasse lignocellulosique en éthanol.

pays comme une solution réaliste pour faire face à l'épuisement des ressources pétrolières. Mais le contre-choc pétrolier de 1986 et la chute du cours du baril de pétrole en deçà de 20 \$ ont ralenti leur développement plus particulièrement en Europe. L'éthanol est le biocarburant dont l'usage est le plus répandu à l'échelle mondiale. Sa production est pratiquement dix fois plus importante que celle du biodiesel (en 2005, 36 Mt dont 80 % utilisés en tant que carburant contre un peu moins de 4 Mt de biodiesel). Le contexte étant aujourd'hui plus favorable, l'éthanol ex-lignocellulose représente un des nouveaux candidats prêt à un développement industriel (Figure 4). Le procédé de bioconversion de la biomasse lignocellulosique, permettant de produire le bioéthanol dit de deuxième génération, possède deux étapes clés : une étape de prétraitement permettant de rendre la cellulose accessible à l'attaque enzymatique et une étape d'hydrolyse enzymatique de la cellulose, toutes deux conduisant au final à la production de sucres (hexoses et pentoses) qui seront fermentés pour obtenir du bioéthanol. Le prétraitement vise à modifier les propriétés physiques et physicochimiques du matériau lignocellulosique, et donc de la fraction cellulosique, telles que son degré de polymérisation ou son état de

cristallinité. Le prétraitement doit dans l'idéal être rapide et efficace à fortes concentrations en substrats, et les pertes de matières doivent être minimales.

D'autre part, la nature du prétraitement doit être compatible avec l'utilisation d'un matériel simple et peu onéreux. Enfin, les coûts de fonctionnement devront être les plus faibles possibles, notamment en consommation de vapeur, électricité et réactifs chimiques. De nombreux types de prétraitements ont été développés pour rendre accessible la lignocellulose aux cellulases. Les deux grands types de prétraitements sont les prétraitements physique et physico-chimique. Le premier a pour unique but de réduire le degré de polymérisation de la cellulose et de la lignine et donc d'augmenter les surfaces accessibles par les enzymes (Ogier *et al.*, 1998). Les principaux inconvénients de cette technique sont les coûts d'investissement et d'énergie rédhibitoires pour l'économie du procédé. Des procédés physico-chimiques ont ainsi été développés, et une des méthodes les plus efficaces consiste en un prétraitement par explosion à la vapeur (Saddler *et al.*, 1993, Eklund *et al.*, 1990, Mamers & Menz, 1984). Le traitement aboutit à une hydrolyse partielle de l'hémicellulose (autohydrolyse due à la libération des groupements acétyl), à une

fusion des lignines et à une déstructuration intense de la paroi végétale, augmentant les surfaces accessibles pour les enzymes (Pourquié & Vandecasteele, 1993). Il s'accompagne d'une diminution du degré de polymérisation, mais également d'une augmentation de l'indice de cristallinité de la cellulose (Puls *et al.*, 1985, Miller *et al.*, 1989).

Mais un des points, bloquant actuellement l'industrialisation du procédé de production de biocarburant ex-lignocellulose, est le coût excessif associé à l'étape d'hydrolyse enzymatique. Il n'existe pas d'enzyme capable d'hydrolyser à elle seule la cellulose native : les systèmes cellulolytiques efficaces mettent en jeu plusieurs enzymes de spécificités différentes. La dégradation de la cellulose a été particulièrement étudiée chez *T. reesei*, ce qui a permis de proposer un modèle de référence pour sa dégradation (Mielenz, 2001). Comme décrit précédemment, les enzymes cellulolytiques agissent de façon concertée sur les fibrilles de cellulose mais sur des modes très distincts et complémentaires : les endoglucanases fragmentent les chaînes situées à la surface des fibrilles où le degré de cristallinité est le plus réduit. Les deux types de cellobiohydrolases, CbhI et CbhII, interviennent ensuite pour dégrader respectivement les extrémités réductrices et non-réductrices des chaînes de cellulose disponibles, produisant ainsi du cellobiose. Ce cellobiose est enfin converti en deux molécules de glucose grâce à l'action des  $\beta$ -glucosidases. L'activité des cellobiohydrolases est primordiale pour l'hydrolyse de cellulose cristalline : les cellulases CbhI et CbhII sont les principaux constituants du système cellulolytique de *T. reesei*, elles représentent 80 % des protéines sécrétées dans le milieu. Comme décrit précédemment, les cellulases ont la particularité de présenter de fortes synergies. Trois formes de synergie existent : une synergie endo-exo entre endoglucanases et exoglucanases ; une synergie exo-exo entre exoglucanases agissant aux extrémités réductrices et non réductrices des chaînes de cellulose et enfin une synergie entre les exoglucanases et les  $\beta$ -glucosidases, le cellobiose étant un inhibiteur important des cellobiohydrolases.

De nombreux travaux de recherches sont menés sur ces filières de deuxième génération, en particulier aux États-Unis et en Europe. La production de cellulases au stade industriel utilise des souches hyperproductrices de *Trichoderma reesei*. Les meilleures productions citées ont été obtenues avec la souche mutante *T. reesei* CL847 qui permet d'atteindre des concentrations de protéines sécrétées dans le milieu de l'ordre de  $35 \text{ g.L}^{-1}$  (Durand *et al.*, 1998 ; Diener *et al.*, 2004). Au stade industriel, des productions de  $50 \text{ g.L}^{-1}$  sont obtenues avec cette souche mais la qualité du cocktail enzymatique sécrété n'est pas optimale. À côté des cellulases, il existe en effet chez certains champignons des enzymes auxiliaires pour la saccharification. Chez

*A. niger* par exemple, des travaux ont montré que la feruloyl esterase type A, impliquée notamment dans la dégradation des xyloxyanes, peut améliorer la saccharification (de Vries, 2002). Autre exemple : les coumaroyl estérases ou cinnamoyl estérases de type B. Elles sont responsables de l'hydrolyse des esters d'acide coumarique présents dans les hétéroxyloxyanes, composé phénolique majoritaire des pailles de blé (Pan *et al.*, 1998). Des complémentations génétiques du génome de *T. reesei* pourrait ainsi améliorer le sécrétome des souches industrielles utilisées pour produire les enzymes de dégradation de la lignocellulose, rendant ainsi le procédé plus compétitif.

### Vers un concept de bioraffinerie

La production de carburant issu d'une matière première renouvelable est donc une première étape indispensable vers une diversification des ressources énergétiques. Mais les ressources fossiles sont aussi la base de nombreux produits dérivés issus de la pétrochimie, comme les polyoléfinés (éthylène, propylène et butadiène) obtenues par vapocraquage du gaz naturel et du pétrole, ou les fractions aromatiques BTX (Benzène, Toluène, Xylènes) obtenues après reformage catalytique du naphta. Il faut donc trouver des alternatives à ces dérivés et les ressources végétales peuvent y répondre en partie. En effet, les molécules fonctionnelles (alcools, acides, saccharides, peptides, protéines, hétérocycles, esters, di-alcools, di-acides, etc.) issues des matières premières renouvelables sont pléthore et peuvent servir notamment en chimie ou pour l'élaboration de nouveaux matériaux. Le glucose par exemple, principal produit de l'hydrolyse de la lignocellulose, est une matière première de la fabrication de nombreux dérivés tels que le sorbitol qui trouve des applications en chimie industrielle. L'acide lactique, intermédiaire de la production des biopolymères, peut être destiné à la fabrication des bioplastiques et des solvants. Il permet notamment de synthétiser un polymère nommé PLA (PolyLactic Acid), qui est un thermoplastique présentant une bonne biodégradabilité et qui entre en concurrence avec des thermoplastiques d'origine pétrochimique. D'autres types d'acides organiques sont en devenir en termes d'applications, notamment dans le secteur des biomatériaux. Dernier exemple, le sorbitol, qui trouve des applications dans la production d'additifs de polymères et de tensioactifs.

Les voies de substitution aux produits dérivés de la pétrochimie sont nombreuses mais, afin de pouvoir établir une filière industrielle compétitive de productions de bioproduits, il faut pouvoir valoriser l'ensemble des produits/co-produits des filières végétales en développant le concept de « bioraffinerie ». Cela pourrait se matérialiser en intégrant sur un même

site industriel la production de biocarburants par les voies biologique et thermochimique (dites aussi BtL et aboutissant à un carburant de synthèse liquide à partir de la biomasse végétale). Cette intégration entre une plate-forme « sucre » et une plate-forme « thermochimique » aboutirait à la création d'une bioraffinerie à même de produire, tout comme les raffineries d'aujourd'hui, du carburant de type essence (l'éthanol) ainsi que des bases d'origine végétale pour la pétrochimie.

## Conclusion

Les ressources fossiles ont été pendant des décennies la base du développement économique mondial, mais les réserves commencent à montrer leurs limites et la transition vers d'autres types de ressources s'amorce à l'aube de ce nouveau siècle. Un schéma de fonctionnement de l'industrie basé sur une source de carbone non renouvelable n'étant pas viable à long terme, il devient donc nécessaire aujourd'hui de basculer d'une dépendance essentielle fondée sur les ressources fossiles vers un développement durable fondé sur des ressources renouvelables. Quatrième source d'énergie primaire consommée dans le monde après le pétrole, le charbon et le gaz, la biomasse représente aujourd'hui la première forme d'énergie renouvelable. Les gisements disponibles sont importants et une part non négligeable de ce potentiel pourrait être convertie en énergie et tout particulièrement en carburants de substitution. L'enjeu est crucial puisque les filières de production de carburant de seconde génération constituent aujourd'hui une source importante de diversification énergétique. Et le potentiel de cette biomasse va au-delà, elle représente aussi une nouvelle source de carbone utilisable dans l'industrie de la chimie et pourrait répondre aux futurs besoins des secteurs alimentaire ou pharmaceutique. Mais la réussite d'une telle transition impliquera le développement concerté des différentes voies biotechnologiques. Le concept de bioraffinerie s'inscrit dans cette logique en voulant rassembler l'ensemble des procédés conduisant à la transformation des ressources renouvelables en produits à haute valeur ajoutée, pouvant notamment remplacer certains dérivés du pétrole. La question prioritaire à ce niveau sera de définir la fonction que remplit le produit pétrochimique à substituer et il faudra donc adapter la nature du produit de substitution à la fonction identifiée et aux matières premières renouvelables. La substitution s'effectuera lorsque les conditions de marché, incluant le coût du pétrole, les contraintes réglementaires et les demandes sociales, donneront l'avantage aux produits de substitution.

## Références

- Attala R.H., Celluloses. Cambridge, UK : Elsevier, 1999.
- Barnoud F., La cellulose. In : B. Monties (éd.). Les polymères végétaux : polymères pariétaux et alimentaires non azotés, 1980, 66-86. Bordas, Paris.
- Beguín P. & Aubert J.P., The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1994, 13, 25-58.
- Coughlan M.P. & Hazlewood G.P., beta-1,4-D-xylan-degrading enzyme systems : biochemistry, molecular biology and applications. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 1993, 17, 259-289.
- Das N.N., Das, S.C. & Mukerjee A.K., On the ester linkage between lignin and 4-O-methyl-D-glucurono-D-xylan in just fiber (*Corchorus capsularis*). *Carbohydr. Res.*, 1984, 127, 345-348.
- Davies G. & Henrissat B., Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases. *Structure*, 1995, 3, 853-859.
- de Vries R.P., vanKuyk P.A., Kester H.C. & Visser J., The *Aspergillus niger* faeB gene encodes a second feruloyl esterase involved in pectin and xylan degradation and is specifically induced in the presence of aromatic compounds. *Biochem. J.*, 2002, 363, 377-386.
- Diener S.E., Dunn-Coleman N., Foreman P., Houfek T.D., Teunissen P.J.M., van Solingen P., Dankmeyer L., Mitchell T.K., Ward M. & Dean R.A., Characterization of the protein processing and secretion pathways in a comprehensive set of expressed tags from *Trichoderma reesei*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2004, 230, 275-282.
- Durand H., Baron M., Calmels T. & Tiraby G., Classical and molecular genetics applied to *Trichoderma reesei* for the selection of improved cellulolytic industrial strains. *FEMS Symp.*, 1988, 43, 135-152.
- Eklund, R., Galbe, M. & Zacchi, G. Optimization of Temperature and Enzyme Concentration in the Enzymatic Saccharification of Steam Pretreated Willow. *Enz. Microb. Technol.*, 1990, 12, 225-228.
- Eriksson K.E.L., Blanchette R.A. & Ander P., Biodegradation of hemicelluloses. Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components. Springer-Verlag publ., Berlin, 408 pp. 1990.
- Gilbert H.J. & Hazlewood G.P., Bacterial cellulase and xylanase, *J. Gen. Microbiol.*, 1993, 139, 187-194.
- Haigler C.H., Rao N.R., Roberts E.M., Huang J.Y., Upchurch D.R. & Trolinder N.L., Cultured Ovules as Models for Cotton Fiber Development under Low Temperatures. *Plant Physiol.*, 1991, 95, 88-96.
- Henrissat B. & Bairoch A., New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino-acid sequence similarities. *Biochem. J.*, 1993, 293, 781-788.
- Henrissat B. & Bairoch A., Updating the sequence-based classification of glycosyl hydrolases. *Biochem. J.*, 1996, 316, 695-696.
- Henrissat B., A classification of glycosyl hydrolases based on amino-acid sequence similarities. *Biochem. J.*, 1991, 280, 309-316.



- Joseleau, J.P., Les hémicelluloses. *In*: Les polymères végétaux. Monties B. ed, Gauthier-Villars, Paris 1980, 269.
- Lee J., Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *J. Biotechnol.*, 1997, 56, 1–24.
- Mamers H. & Menz D.N.J., Explosion Pretreatment of *Pinus radiata* Woodchips for the Production of Fermentation Substrates. *Appita*, 1984, 37, 644–649.
- Mielenz J.R., Ethanol production from biomass : technology and commercialization status. *Curr. Op. Microbiol.*, 2001, 4, 324–329.
- Miller D., Sutcliffe R. & Saddler J.N., *In*: TAPPI Proceedings of the International Symposium on Wood and Pulping Chemistry, Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Atlanta, GA, 1989, 9–11.
- Ogier J.C., Ballerini D., Leygue J.-P., Rigal L. & Pourquié J., Production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique, *Oil & Gas Science & Technology – Revue de l'IFP*, 1999, 54, 67–94.
- Pan G.X., Bolton J.L. & Leary G.J., Determination of ferulic and p-coumaric acids in wheat straw and the amounts released by mild acid and alkaline peroxide treatment. *J. Agric. Food. Chem.*, 1998, 46, 5283–5288.
- Pourquié, J. & Vandecasteele, J.P., Conversion de la biomasse lignocellulosique par hydrolyse enzymatique et fermentation. *Biotechnologie*, 4e édition, René Scriban, coordinateur Lavoisier TEC & DOC, Paris, 1993, 677–700.
- Puls J., Poutanen K., Korner H.U. & Viikari L., Biotechnical Utilization of Wood Carbohydrates after Steaming Pretreatment. *Applied Microb. Biotech.*, 1985, 32, 416–423.
- Robert D. & Catesson A.M., Biologie végétale : caractéristique et stratégie évolutive des plantes. Organisation cellulaire. Doin. Paris, 2000.
- Roland J.-C., Mosiniak M. & Roland D., Dynamique du positionnement de la cellulose dans les parois des fibres textiles du lin (*Linum usitatissimum*) *Acta bot. gallica*, 1995, 142, 463–484.
- Saddler, J.N., Ramos, L.P. & Breuil, C., Steam Pretreatment of Lignocellulosic Residues. *In* : Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Residues, Saddler, J.N., éd., Wallingford, R.U., 1993, 73–91.
- Tomme P., Warren R.A. & Gilkes N.R., Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. *Adv. Microb. Physiol.*, 1995, 37, 1–81.
- Wilkie, K.C.B. The hemicelluloses of grasses and cereals. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 1979, 36, 215–264.
- Zaldivar J., Nielsen J. & Olsson L., Fuel ethanol production from lignocellulose : a challenge for metabolic engineering and process integration. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, 56, 17–34.