جامعة سيدي محمد بن عبد الله بفاس
ⵜⴰⵙⴷⴰⵡⵉⵜ ⵙⵉⴷⵉ ⵎⵓⵃⴰⵎⵎⴷ ⵓ ⵄⴱⴷⵍⵍⴰⵀ ⴳ ⴼⴰⵙ
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES

كلية العلوم ظهر المهراز فاس
ⵜⴰⵖⵉⵍⵓⵜ ⵏ ⵜⵣⵔⴼⵜ ⵏ ⵡⵎⴰⵀⵔⴰⵣ ⴼⴰⵙ
FACULTE DES SCIENCES DHAR EL MAHRAZ FES

Centre des Etudes : ***Sciences et Techniques et Sciences Médicales*** **N° d'ordre : 84/2024**

Formation Doctorale : ***Ressources Naturelles, Environnement et Développement Durable (RNE2D)***

Discipline : ***Biologie***

Spécialité : ***Biotechnologie et Microbiologie***

THÈSE DE DOCTORAT

Valorisation des déchets lignocellulosiques par des procédés biotechnologiques : production d'enzymes lignocellulolytiques et de bioéthanol

Présentée par : **BENDAOUD Ahmed**

Soutenue le 27/12/2024

Nom et Prénom	Etablissement	Grade	Président
Pr. TALEB Mustapha	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès	PES	Président
Pr. ZAHIR Ilham	Faculté Polydisciplinaire de Béni Mellal	MCH	Rapporteur
Pr. AINANE Tarik	Ecole Supérieure de Technologie, Khénifra	MCH	Rapporteur
Pr. MERZOUKI Mohammed	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès	PES	Rapporteur
Pr. CHERROUD Sanâa	Ecole Supérieure de Technologie, Khénifra	MCH	Examinateur
Pr. BENZIANE OUARITINI Zineb	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès	MCH	Examinateur
Pr. LAHKIMI Amal	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès	MCH	Directeur de thèse
Pr. ELOUTASSI Noureddine	Centre régional des métiers de l'éducation et de la formation, Fès	PES	Co-Directeur de thèse

Année Universitaire : 2023-2024

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

*L'âme de mon père **Mhammed**, qui a souhaité depuis ma naissance me voir devenir une personne éduquée atteignant les plus hautes sphères,*

*Ma mère **Rahma**, que Dieu ait son âme, en reconnaissance de son soutien continu et de ses prières incessantes pour la réalisation du succès et de l'éclat constant.*

*Mon oncle **Ali** qui se tient toujours à mes côtés, merci mon deuxième père.*

*Ma deuxième mère **Tamo**, à qui je voue une sincère gratitude pour son éducation et son attention depuis ma tendre enfance, me considérant comme l'un de ses propres enfants.*

*Ma compagne **Begga Najate***

*Mon fils **Yasser** et ma puce **Meryem**,*

Mes frères, mes cousins qui ont toujours cru en moi, et n'ont jamais cessé de m'apporter un soutien moral.

AVANT-PROPOS

Cette étude a été réalisée à la Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès, par l'équipe de Gestion et Valorisation des Ressources Naturelles, au sein du laboratoire d'Ingénierie, d'Électrochimie, de Modélisation et d'Environnement (LIEME). Ce travail a été effectué sous la direction de Madame la Professeure Amal LAHKIMI et Monsieur le Professeur Noureddine ELOUTASSI .

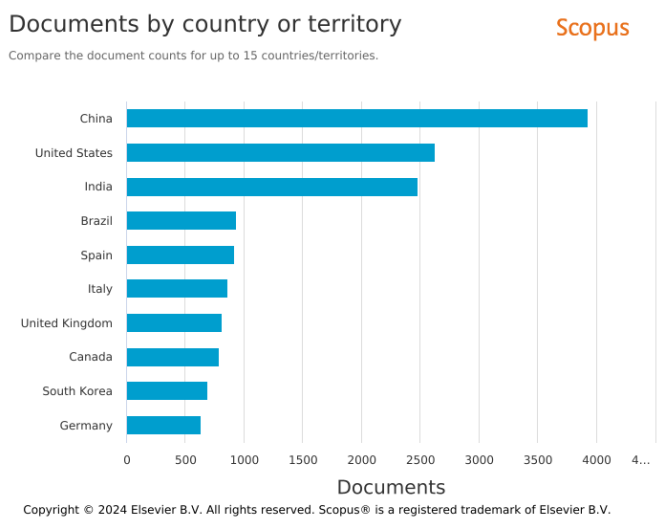
Évolution de la thématique étudiée

La thématique que nous explorons se distingue par son caractère unique et innovant. L'intérêt croissant qu'elle suscite à travers le monde se traduit par une profusion de publications croissant, provenant de différents pays et bénéficiant du soutien de divers financeurs. Cette dynamique met en lumière l'originalité et la pertinence de notre sujet, captivant l'attention des spécialistes et des décideurs, tout en reflétant son importance grandissante dans les débats contemporains.

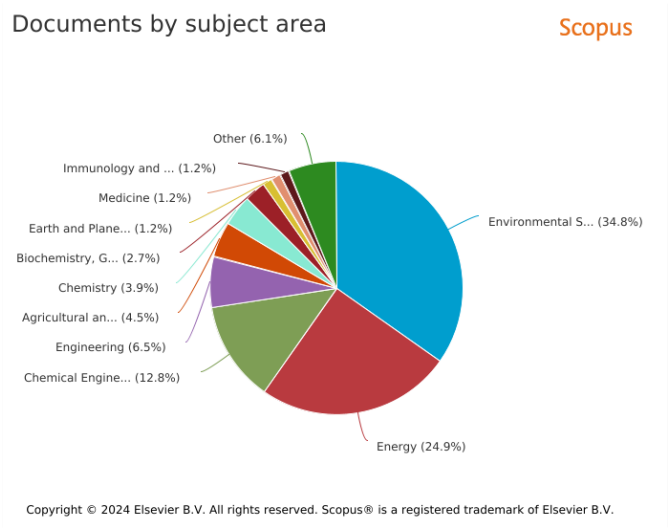
La recherche dans la base de données Scopus a identifié 19,081 documents pertinents (Scopus, 2024) sur la valorisation énergétique des déchets de la biomasse lignocellulosique. Les mots-clés ont été choisis pour leur capacité à cibler spécifiquement les aspects clés de notre sujet d'étude.

Les mots-clés : (Bioethanol OU biofuel OU cellulase OU hemicellulase OU pretreatment) ET (ligocellulose OU cellulose OU hemicellulose OU lignocellulosic OU biomass OU (forest OU agricultural OU municipal OU wood OU plant) ET (residues OU waste).

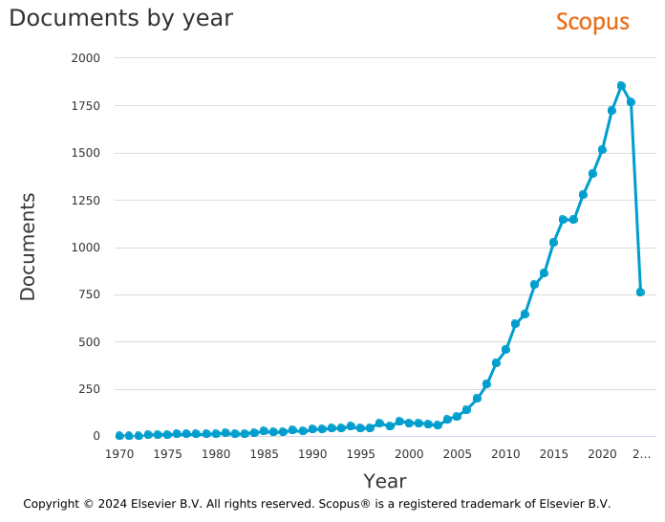
L'analyse de ces publications révèle que les recherches scientifiques dans ce domaine ont débuté dès le début du XXIe siècle et ont depuis connu une croissance exponentielle jusqu'à nos jours **Figure 1c**. Les pays leaders dans cette recherche sont la Chine, les États-Unis et l'Inde, représentant ensemble 50% de l'ensemble des recherches menées **Figure 1a**. De plus, les domaines de l'environnement et de l'énergie sont les plus fréquemment abordés dans ces publications **Figure 1b**. Le domaine de recherche que nous avons choisi pour cette étude est fertile et nous supposons que cette étude sera une contribution qualitative dans ce domaine au Maroc.



(a) Analyse des publications par pays.



(b) Analyse des publications par domaine de recherche.



(c) Analyse des publications par année.

FIGURE 1 . Évolution de la thématique étudiée.

Publications scientifiques

1. Bendaoud, A., Lahkimi, A., Kara, M., Moubchir, T., Assouguem, A., Belkhiri, A., Allali, A., Hmamou, A., Almeer, R., Sayed, A.A., Peluso, I., Eloutassi, N. Field Study and Chemical Analysis of Plant Waste in the Fez-Meknes Region, Morocco.(2022). *Sustainability (Switzerland)*, 14 (10), art. no. 6029. https://doi.org/10.3390/su14106029 .
2. Bendaoud, A., Belkhiri, A., Maai, M., Moubchir, T., Hmamou, A., Tlemcani, S., Eloutassi, N., Lahkimi,A. Simple and Combined Pretreatment of a Mixture of Forestry and Aromatic-Medicinal Plant Waste by Chemical, Physical and Enzymatic Methods.(2023). *Journal of Ecological Engineering*, 24 (4), pp. 376-383. https://doi.org/10.12911/22998993/160094.
3. Bendaoud, A. and Hmamou, A. and Moussaoui, F. and Eloutassi, N. and Lahkimi, A. Optimization of Lignocellulosic Enzyme production by Microbial Strains : Study of Kinetics and Environmental Influences (2024). *Research Journal of Chemistry and Environment*, 28 (9), pp. 1-8. https://doi.org/10.25303/289rjce0108.
4. Bendaoud, A., Belkhiri, A., Hmamou, A., Tlemcani, S., Eloutassi, N., & Lahkimi, A.Efficient Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass Using Diverse Microbial Strains.*Journal of Ecological Engineering*, 25 (10), pp. 353-362. https://doi.org/10.12911/22998993/191748.
5. Belkhiri, A., Sadki, M., Maliki, A., Moubchir, T., Bendaoud, A., Chahdi Ouazzani, K., Saidi, A.,Chahlaoui, A. Effect of season, habitat type and anthropogenic pressure on the bird diversity in the vineyards agroecosystems in the region of Fes-Meknes. (2023). *African Journal of Ecology*, 61 (2), pp. https://doi.org/10.1111/aje.13112.
6. Belkhiri, A., Chahlaoui, A., Bendaoud, A., Sadki, M., Moubchir, T., Haddadi, Y., Saidi, A., Maliki, A. Effects of vineyard management, herbaceous cover and vine plant characteristics on bird diversity in a North African agroecosystem. (2023) African Journal of Ecology, 61 (4), pp. 898-906. https://doi.org/10.1111/aje.13191.
7. El Ouadrhiri, F., Elyemni, M., Adachi, A., Hmamou, A., Bendaoud, A., Chaouch, M., Lahkimi, A. Investigation of the Physico-Chemical Quality of the Wastewater in Fez City (Morocco) Using a Multivariate Statistical Method. (2022). *Ecological Engineering and Environmental Technology*, 23 (6), pp. https://doi.org/10.12912/27197050/152142.

8. Hmamou, A., Kara, M., Khomsi, M.E., Saleh, A., Al Kamaly, O., Bendaoud, A., El Ouadrhiri, F.,Adachi, A., Tlemcani, S., Eloutassi, N., Lahkimi, A. Comparative Study on the Total Phenolics, Total Flavonoids, and Biological Activities of Papaver rhoeas L. Extracts from Different Geographical Regions of Morocco. (2023). *Applied Sciences (Switzerland)*, 13 (4), art. no. 2695. https://doi.org/10.3390/app13042695.
9. Hmamou, A., El Khomsi, M., El-Assri, E.-M., Kara, M., El oumari, F.E., El Ouadrhiri, F., Bendaoud, A., Elmansouri, I., Eloutassi, N., Lahkimi, A. Chemical characterization, anti-struvite crystal, anti-inflammatory, analgesic, and antidepressant activities of Papaver rhoeas L. root and leaf extracts (2024) Journal of Ethnopharmacology, 319, art. no. 117208, . https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117208.
10. Hmamou, A., Eloutassi, N., Alshawwa, S.Z., Al Kamaly, O., Kara, M., Bendaoud, A., El-Assri, E.-M., Tlemcani, S., El Khomsi, M., Lahkimi, A. Total Phenolic Content and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Papaver rhoeas L. Organ Extracts Growing in Taounate Region, Morocco. (2022). *Molecules*, 27 (3), art. no. 854,. https://doi.org/10.3390/molecules27030854.
11. Sanae, R., Sarra, E.-H., Tarik, M., Jihan, F., Bendaoud, A., Ghada, B., Aimad, A., Noureddine, E. Evaluation of the Impact of Anthropic Activities on the Physico-Chemical and Microbiological Parameters of the Water of the Wadi Inaouene and Its Tributaries (2023) Ecological Engineering and Environmental Technology, 24 (5), pp. 282-294. https://doi.org/10.12912/27197050/162703.
12. Tarik, M., Noureddine, E., Ahmed, B., Abdelkhalek, B., Mohamed, M., Majida, M., Ilham, Z. Heavy Metals Analysis and Quality Evaluation in Drinking Groundwater around an Abandoned Mine Area of Ouichane (Nador's Province, Morocco). (2023). *Journal of Ecological Engineering*, 24 (5), pp. 118-127. https://doi.org/10.12911/22998993/161451.
13. Tlemcani, S., Lahkimi, A., Eloutassi, N., Bendaoud, A., Hmamou, A., Bekkari, H. Ethnobotanical study of medicinal plants in the Fez-Meknes region of Morocco. (2023). *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*, 11 (1), pp. 137-159. https://doi.org/10.56499/jppres22.145911.1.137.
14. Moubchir, T., Faouzi, J., Loukili, E. H., Bendaoud, A., Belkhiri, A., Rezouki, S., ... & Zahir, I. Investigation of the Hydrochemistry Quality of the Ouichane Groundwater (Morocco) Using Multivariate Statistical Methods and Diagram Analysis. (2024). *Moroc-*

can Journal of Chemistry, 12(2), 734-746. https://doi.org/10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v12i2.43030.

Communications scientifiques

Communications orales

1. Ahmed Bendaoud, Noureddine Eloutassi, Anouar Hmamou, Amal Lahkimi.Analyse quantitative de la cellulose, l'hémicellulose, et la lignine dans divers déchets verts de la région Fès-Meknès, Maroc. *1er Symposium International : «Pharmacologie, Phytothérapie et Phytochimie des Plantes Aromatiques et Médicinales*.(Khenifra,Maroc,27-28 Juillet 2021).
2. Bendaoud ahmed , Anouar Hmamou, Abderrazak Adachi, Sara Tlemcani, Noureddine Eloutassi and Amal Lahkimi. Activité enzymatique cellulolytique d'Aspergillus niger, Zymomonas mobilis et Trichoderma longibrachiatum sur un hydrolysat lignocellulosique. *5ème édition du congrès international des études sur l'eau et l'environnement (CI3E'2023)*.(Al-Hoceima,Maroc, 09-11 Mars 2023).
3. Ahmed Bendaoud, Noureddine Eloutassi, Anouar Hmamou, Abdelkhalek Belkhiri, Amal Lahkimi. Study of the chemical composition of plant waste in the Fez-Meknes region, Morocco. *4th edition of the international congress on water and environment studies (CI3E 2021)*.(Fès, Maroc, 15- 17 Décembere 2021).
4. Ahmed Bendaoud, Noureddine Eloutassi, Anouar Hmamou, Abdelkhalek Belkhiri, Amal Lahkimi. Déchets des plantes : ressource importante de la biomasse lignocellulosique. *Troisième Edition de la Rencontre Nationale sur les Ressources Naturelles"3RNS"*. (Sefrou, Maroc, 28 octobre 2021).
5. Ahmed Bendaoud, Hmamou Anouar, Adachi Abderrazak, Tlemçani Sara, Eloutassi Noureddine and Lahkimi Amal. Energetic valorization of lignocellulosic residues by biotechnological processes. *1st edition of the scientific days Analytical Chemistry and Environment for Sustainable Development (CAE2D-1)*. (Fès, Maroc, 5-6 Juillet 2024).
6. Anouar Hmamou, Ahmed Bendaoud, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi. Analgesic, and antidepressant activities of Papaver rhoeas L. root and leaf extracts. 12th Annual University Research Symposium (URS), March 4 and 5, 2024.
7. Anouar Hmamou, El-Mehdi El-Assri, Ahmed Bendaoud, Faiçal El Ouadrhiri, Abderraz-

zak Adachi, Mostafa El Khomsi, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi. Antioxidant activity of Papaver rhoeas L. extracts. La 5ème édition du congrès international des études sur l'eau et l'environnement (ci3e'23) du 09 au 11 mars 2023 à Al-Hoceima, Maroc.

8. Anouar Hmamou, Mostafa El Khomsi, Ahmed Bendaoud, Faiçal El Ouadrhiri, Adachi Abderrazzak, El-Mehdi El-Assri, Mohammed Kara, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi. Phenolic content and antimicrobial activity of Papaver rhoeas L. extracts. The 6th International Conference on Materials and Environment (ICME6-2022) 19 & 20 December 2022, Faculty of Sciences, Meknes, Morocco.
9. Anouar Hmamou, Noureddine Eloutassi, Mohammed Kara, Ahmed Bendaoud, Sara Tlemcani, Amine Assouguem, Mahdi Chaouch, Amal Lahkimi. Étude phytochimique d'extraits de la plante aromatiques et médicinale Papaver rhoeas L. de la région de Taounate, Maroc. Ier Symposium International « Pharmacologie, Phytothérapie et Phytochimie des Plantes Aromatiques et Médicinales » 27 et 28 juillet 2021 (Hybride) Khénifra – Maroc.

Communications affichées

1. Ahmed Bendaoud, Tarik Moubchir, Anouar Hmamou, Abderrazak Adachi, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi. Enzymatic treatment of mixture of forestry, medicinal and aromatic plant waste in the Fez- Meknes region, Morocco. *6th international conference on Material and environement "ICME6-2022"*. (Meknès, Maroc, 19-20 Décembre 2022).
2. Ahmed Bendaoud, Hmamou Anouar, Adachi Abderrazak, Tlemçani Sara, Eloutassi Noureddine and Lahkimi Amal. Production of bioethanol by the strains of Aspergillus niger, Zymomonas mobilis and Trichoderma longibrachiatum on a lignocellulosic hydrolyzate.*1st edition of the scientific days Analytical Chemistry and Environment for Sustainable Development (CAE2D-1)*. (Fès, Maroc, 5-6 Juillet 2024).
3. Anouar Hmamou, Ahmed Bendaoud, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi. Étude comparative de la phytochimie du Papaver rhoeas collecté dans trois provinces différentes de la région de Fès-Meknès. Une Journée d'Étude : Valorisation et Traitement des margines dans le bassin de Sebou. Vendredi 22 décembre 2023.
4. Anouar Hmamou, Mohammed Kara, Ahmed Bendaoud, Mostafa El Khomsi, Ahmed Bendaoud, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi. Total Phenolic Content and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Papaver rhoeas L. Organ Extracts Growing in Taounate Region, Morocco. Le premier congrès international sur les ressources naturelles :

recherche et stratégies pour un développement durable - Faculté des sciences techniques de Fès, Maroc. Du 26 au 28 mai 2022.

5. Anouar Hmamou, El-Mehdi El-Assri, Mohammed Kara, Ahmed Bendaoud, Mostafa El Khomsi, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi. Total Phenolic Content and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Papaver rhoeas L. Organ Extracts Growing in Taounate Region, Morocco. Cinquième Colloque Maghrébin sur la Chimie Hétérocyclique (CMCH 5-2022), les 13, 14 & 15 juillet 2022 à la Faculté des Sciences de l'Université Moulay Ismail, à Meknès au Maroc, en collaboration avec l'Association Tunisienne de Chimie Hétérocyclique et ses Applications (STCHA) en Tunisie.

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord et avant tout Allah, qui m'a accordé la santé et la volonté nécessaires pour entreprendre et mener à bien ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux membres de mon jury de thèse pour leur implication, leur disponibilité et leurs précieux conseils.

En premier lieu, je remercie chaleureusement **Pr. TALEB Mustapha**, Président du jury, pour avoir accepté de diriger cette séance. Ses observations pertinentes et ses retours constructifs ont considérablement enrichi mes travaux.

Je remercie également l'ensemble des membres du jury, qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention mon travail : **Pr. ZAHIR Ilham**, **Pr. AINANE Tarik**, et **Pr. MERZOUKI Mohammed**, pour avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse et pour m'avoir fourni de nombreuses pistes de recherche pour les années à venir ; **Pr. CHERROUD Sanâa** et **Pr. BENZIANE OUARITINI Zineb**, pour avoir accepté d'examiner cette thèse.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à ma directrice de thèse, **Pr. LAHKIMI Amal**, pour son accompagnement inestimable tout au long de ce projet. Sa rigueur scientifique, son expertise et ses encouragements constants ont joué un rôle clé dans la réalisation de cette thèse. Son humanité et son professionnalisme ont été pour moi une source continue de motivation et d'inspiration.

Mes remerciements s'adressent également à **Pr. ELOUTASSI Noureddine**, mon co-directeur de thèse, pour son soutien précieux et ses conseils éclairés. Sa disponibilité et ses compétences scientifiques ont été d'une aide inestimable tout au long de cette recherche.

Je remercie également l'ensemble de l'équipe du laboratoire d'Ingénierie, d'Électrochimie, de Modélisation et d'Environnement (**LIEME**) pour leur soutien, leur collaboration et les mo-

ments d'échange constructifs. Leur disponibilité et leur expertise ont contribué de manière significative à la réussite de ce projet.

Enfin, j'exprime ma reconnaissance la plus profonde à ma famille et à mes amis pour leur soutien, leurs encouragements constants et leur présence précieuse tout au long de ce parcours.

RÉSUMÉ

La bioconversion de la biomasse lignocellulosique (BLC) en bioéthanol constitue une alternative prometteuse pour réduire la dépendance aux combustibles fossiles et lutter contre le changement climatique. Cependant, la récalcitrance du complexe lignocellulosique nécessite un prétraitement préalable pour permettre sa valorisation. Cette étude visait à valoriser le potentiel énergétique en bioéthanol de divers sous-produits lignocellulosiques par des procédés biotechnologiques.

Des échantillons, comprenant les résidus forestiers (RF), les déchets de plantes aromatiques et médicinales (DPAM), les résidus d'oliviers (RO), les grignons d'olive (GO) et les déchets ménagers (DM), collectés après une enquête auprès de divers secteurs d'activité, ont été soumis à des analyses chimiques pour évaluer leur potentiel énergétique. Concernant l'étape du prétraitement, Deux approches ont été appliquées : un prétraitement simple (TS) et un prétraitement combiné (TC), intégrant plusieurs méthodes, telles que l'hydrolyse acide (Ac), l'explosion à la vapeur (EV) et l'hydrolyse enzymatique (E). La fermentation en milieu liquide, réalisée avec des souches microbiennes spécifiques (*Aspergillus niger*, *Trichoderma longibrachiatum* et *Zymomonas mobilis*), a permis de valoriser ces substrats lignocellulosiques pour produire des enzymes lignocellulolytiques et du bioéthanol.

Les résultats ont montré que 68,4 % des résidus végétaux rejetés par les secteurs d'activité enquêtés étaient des résidus solides, dont 98 % n'étaient ni traités ni valorisés. Les RF, DPAM et les déchets de plantes non utilisables (DPNU) issus des DPAM se sont avérés riches en cellulose (Ce) et en hémicelluloses (He), avec de faibles teneurs en lignine (Li) et en composés phénoliques totaux (CPT), offrant ainsi de meilleures perspectives pour la production de bioéthanol par rapport aux RO, GO et DM. La majorité des résidus, à l'exception des DM, présentaient des caractéristiques favorables telles qu'une faible humidité, une faible teneur en cendres et un

pouvoir calorifique (PCI) compris entre 14,5 et 21,6 MJ/kg.

Les prétraitements (TS : Ac) et (TC : EV, Ac et E) se sont révélés les plus efficaces pour hydrolyser la cellulose (90,5 % et 77,6 %, respectivement) et les hémicelluloses (80,63 % et 87,14 %, respectivement). Cependant, bien que le TC soit respectueux de l'environnement, il est chronophage (24 h), tandis que le TS à l'acide est rapide (25 min) mais présente des effets négatifs, tels qu'un impact environnemental accru et la corrosion des équipements.

Parmi les souches étudiées, *Aspergillus niger* a démontré une activité enzymatique significative (29,78 ± 0,15 U/gds) et un rendement en éthanol élevé (10,78 g/100 g de substrat) à partir des RF et DPAM prétraités. Malgré ces résultats prometteurs, une optimisation des processus est nécessaire pour envisager une application à l'échelle industrielle.

Mots clés : Biomasse lignocellulosique ; Bioéthanol ; Cellulose ; Prétraitement ; Fermentation.

ABSTRACT

The bioconversion of lignocellulosic biomass (BLC) into bioethanol constitutes a promising alternative to reduce dependence on fossil fuels and combat climate change. However, the recalcitrance of the lignocellulosic complex requires prior pretreatment to enable its valorization. This study aimed to valorize the bioethanol energy potential of various lignocellulosic by-products through biotechnological processes.

Samples, including forest residues (RF), aromatic and medicinal plant wastes (DPAM), olive residues (RO), olive pomace (GO), and household waste (DM), collected following a survey of various sectors, were subjected to chemical analyses to assess their energy potential. Regarding the pretreatment step, two approaches were applied : a simple pretreatment (TS) and a combined pretreatment (TC), integrating several methods, such as acid hydrolysis (Ac), steam explosion (EV), and enzymatic hydrolysis (E). Liquid-phase fermentation, carried out with specific microbial strains (*Aspergillus niger*, *Trichoderma longibrachiatum*, and *Zymomonas mobilis*), enabled the valorization of these lignocellulosic substrates to produce lignocellulolytic enzymes and bioethanol.

The results showed that 68.4% of plant residues generated by the surveyed sectors of activity were solid residues, 98% of which were neither treated nor valorized. RF, DPAM, and non-usable plant waste (DPNU) from DPAM were found to be rich in cellulose (Ce) and hemicelluloses (He), with low lignin (Li) and total phenolic compound (CPT) content, offering better prospects for bioethanol production compared to RO, GO, and DM. Most residues, except for DM, exhibited favorable characteristics such as low moisture, low ash content, and a calorific value (PCI) ranging from 14.5 to 21.6 MJ/kg.

The pretreatments (TS : Ac) and (TC : EV, Ac, and E) proved to be the most effective in hydrolyzing cellulose (90.5% and 77.6%, respectively) and hemicelluloses (80.63% and 87.14%,

respectively). However, although TC is environmentally friendly, it is time-consuming (24 h), whereas TS with acid is faster (25 min) but has negative effects, such as environmental impact and equipment corrosion.

Among the studied strains, Aspergillus niger demonstrated significant enzymatic activity (29.78 ± 0.15 U/gds) and high ethanol yield (10.78 g/100 g of substrate) from pretreated RF and DPAM. Despite these promising results, process optimization is required to consider industrial-scale application.

Keywords : Lignocellulosic Biomass ; Bioethanol ; Cellulose ; Pretreatment ; Fermentation.

ملخص

يمثل تثمين الكتلة الحية Biomasse lignocellulosique من أجل أنتاج الإيثانول الإحيائي أحد أكثر البدائل الواعدة لتقليل اعتمادنا على الوقود الأحفوري وللحد من الانعكاسات السلبية للتغيرات المناخية . لكن الإشكالية المطروحة تتمثل في كون هذه الموارد الطبيعية لا يمكن استغلالها بشكل سهل ومباشر بل تتطلب معالجة مسبقة من إجل هدم وتفكيك الألياف المكونة لها وتحويلها إلى جزيئات بسيطة قبل أن تخضع لمرحلة التثمين.

ركزت هذه الدراسة على ثلاثة محاور. اشتمل المحور الأول على (أ) تقييم مدى انخراط المقاولات المغربية في تثمين النفايات الخضراء من جهة و (ب) تحديد المخلفات الصلبة التي تتوفر على قيمة طاقية هامة من جهة اخرى. في مرحلة أولى أجرينا دراسة ميدانية من خلال استبيانات وهجت لمختلف القطاعات المعنية. وبعدها، تم إجراء تحاليل كيميائية على عينات تم جمعها من هذه النفايات. كشفت النتائج عن تنوع في المخلفات الصلبة التي تمثل نسبة 68.4٪ من النفايات الخضراء، بحيث 98٪ تظل دون معالجة. تحتوي مخلفات الغابات (RF) ونفايات النباتات العطرية والطبية (DPAM) على مستويات عالية من السليلوز (Ce) والهيميسيلولوز (He) ، وتحتوي على نسبة منخفضة من اللجنين (Li) والمركبات الفينولية (CPT) مقارنة ببقايا الزيتون (RO) وثفل الزيتون (GO) والنفايات المنزلية (DM). وبالإضافة إلى ذلك، فإن معظم المخلفات، باستثناء النفايات المنزلية، لها خصائص جيدة لإنتاج الإيثانول الأحيائي، مثل نسبة الرطوبة المنخفضة، وكذا محتواها من الرماد، فضلا عن نسبة كبيرة من الكربون والهيدروجين، مع قيمة حرارية تتراوح بين 14.5 و 21.6 ميجا جول / كجم.

تركزالمحور الثاني من هذه الدراسة على تحديد أفضل الطرق للمعالجة المسبقة. من إجل ذلك، تمت إخضاع خليط من RF و DPAM للمعالجة باعتماد مقاربتين: الأولى أحادية (TS) بتطبيق كل طريقة على حدى و الاخرى مشتركة (CT) تدمج طريقتين أو أكثر، ومن اهم هذه الطرق التي تم استخدامها هي: التحلل الكيميائي (Ac) والانفجار البخاري (EV) والتحلل البيولوجي بواسطة الإنزيمات (E). أظهرت النتائج أن المعالجة الكيميائية باعتماد TSوالمعالجة CT هما الأكثر فعالية مقارنة بالطرق الأخرى بحيث حصلنا على نسب تفكيك ل (Ce) على التوالي 90.5٪ و 77.6٪ و ل(He) بنسب 80.63٪ و 87.14٪. من ناحية إخرى يمكن اعتبار أن المعالجة ب CT تتطلب وقتا أطول (حوالي 1 يوم ، لكنها صديق للبيئة ، في حين أن المعالجة الكيميائية باعتماد TS أقل استهلاكا للوقت (حوالي 25 دقيقة) ولكنها ضارة بالبيئة كما تسبب أيضا تآكل المعدات.

أما المحور الأخير فكان الهدف منه هو دراسة النشاط الأنزيمي لبعض الفطريات والبكتيريات المعروفة باستخداماتها في هذا الميدان على خليط من RF و DPAM كمادة أولية وهي *Aspergillus niger* و *Trichoderma longibrachiatum* و

Zymomonas mobilis وكذا تحديد مردودية إنتاجها للإيثانول . تم أيضًا في هذا المحور دراسة تأثير عوامل فيزيائية وكيميائية مختلفة " درجة الحرارة، درجة الحموضة، ونسبة المتعضيات" على نشاط الإنزيمات. أظهرت النتائج أن سلالة *Aspergillus niger* لها نشاط إنزيمي جيد (U/gds 0,15±29,78) وكذا فعاليتها بالمقارنة مع باقي المتعضيات في إنتاج الإيثانول انطلاقا من RF و DPAM خضع لمعالجة مسبقة بمعدل 10.78 جم / 100 جم. على الرغم من هذه المردودية الواضحة في لإنتاج الإيثانول انطلاقا من هذه المخلفات النباتية ، إلا أن العمل على تحسينها ضروري من اجل التمكن من تطبيقها واعتمادها على نطاق واسع في المجال الصناعي.

كلمات مفتاح: الكتلة الحيوية اللينوسلولوزية، الإيتانول الإحيائي، السيلولوز، المعالجة المسبقة، التخمر.

Liste des abréviations

ADF	Acid Detergent Fiber
ADL	Acid Detergent Lignin
ADS	Solution au détergent acide
ACP	Analyse en composantes principales
BE	Besoins énergétiques
BLC	Biomasse lignocellulosique
CBP	Traitement biologique consolidé
CMCase	Carboxyméthylcellulase
CPT	Composés phénoliques totaux
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
DG	Sous-produits de grignons
DM	Déchets ménagers
DO	Résidus d'olivier
DPAMe	Sous-produits des plantes aromatiques et médicinales après extraction
DPAMn	Sous-produits des plantes aromatiques et médicinales non utilisées
DSM	Déchets solides municipaux
EV	Explosion à vapeur
FPase	Activité sur papier filtre
GES	Gaz à effet de serre
HMF	Hydroxymethylfurfural
LCA	Évaluation du cycle de vie

Li	Lignine
LHW	Liquid Hot Water
MESP	Minimum Ethanol Selling Price
NDF	Neutral Detergent Fiber
PA	Prétraitement alcalin
PB	Prétraitement biologique
PC	Prétraitement combiné
Pm	Prétraitement microbien
PMO	Prétraitement par micro-ondes
PO	Prétraitement par des solvants organiques
SHF	Hydrolyse et fermentation séparées
SSF	Saccharification et fermentation simultanées
TCI	Total Capital Investment

Liste des figures

1 Évolution de la thématique étudiée. iii

I.1 Schéma général représentant la structure de la biomasse lignocellulosique . . . 6
I.2 Structure moléculaire de la cellulose représentant l'unité cellobiose en tant qu'unité répétitive 11
I.3 Structure moléculaire d'hémicellulose 12
I.4 Structure moléculaire des principaux constituants de la lignine 13
I.5 Inhibition de l'accessibilité de la cellulase par la lignine :(A) adsorption de la cellulase sur la lignine,(B) blocage physique de la cellulase par la lignine 14

II.1 Différentes méthodes de prétraitement de BLC 16
II.2 Effet de l'humidité sur la taille finale des particules de BLC obtenue après le broyage (A) et sur les besoins énergétiques. 22
II.3 Schéma représentant le processus du prétraitement microbien de BLC 26

III.1 Principales voies de valorisation de BLC 33
III.2 Production mondiale annuelle de bioéthanol entre 2015 et 2021 38

I.1 Axes de recherche de l'enquête 49
I.2 Essences forestières naturelles de la région Fès-Meknès 51
I.3 Photos des échantillons de différents types des sous-produits lignocellulosiques collectés 53
I.4 Etuve Boxun utilisé pour sécher la BLC 54
I.5 Etat du traitement des sous-produits verts et son importance 62
I.6 Composition des sous-produits lignocellulosiques étudiés en sucres et composés phénoliques. a, b, c, d et e : valeurs présentant une différence significative ($p < 0,05$). 66

I.7 Analyse en composantes principales (ACP)(**a**) Représentation de la distribution des différents types de résidus lignocellulosiques (**b**). 69

II.1 Processus de prétraitement d'un mélange de sous-produits de BLC par diverses méthodes 74
II.2 Photographie du substrat préparé composé d'un mélange DF et DPAMn, et DPAMe 75
II.3 Prétraitement mécanique d'un mélange de sous-produits lignocellulosiques (DF, DPAMn et DPAMe) 79
II.4 Optimisation de l'Hydrolyse Acide de BLC (DF+DPAM) par H_2SO_4 à différentes concentrations. 80
II.5 Prétraitement acide par H_2SO_4 (Ac) des sous-produits lignocellulosiques 81
II.6 Prétraitement acide par HCl d'un mélange de sous-produits lignocellulosiques (DF, DPAMn et DPAMe) 82
II.7 Hydrolyse alcaline de BLC (DF+DPAM) 82
II.8 Traitement par explosion à vapeur (EV) des sous-produits lignocellulosiques . . 83
II.9 Traitement enzymatique (E) des sous-produits lignocellulosiques 84
II.10 Effet du prétraitement biologique sur l'hydrolyse des polysaccharides et la libération de monosaccharides. 85
II.11 Traitement combiné (SE+Ac+E) des sous-produits lignocellulosiques 86
II.12 Comparaison des méthodes de traitement après 30 Mn de traitement. Ref représente les valeurs initiales 87
II.13 Comparaison de la concentration moyenne de PST par différentes méthodes après 30 minutes de traitement 88

III.1 Processus de préparation de d'inoculum 96
III.2 Schéma du processus de production d'enzymes cellulolytiques 97
III.3 Courbe d'étalonnage du glucose pour le dosage des activités FPase et CMCase . 98
III.4 Procédé de production du bioéthanol à partir des sous-produits lignocellulosiques 99
III.5 Colonies âgées de deux semaines d'*A. niger* poussant sur un milieu riche PDA avec une observation microscopique d'un conidiophore d'*A. niger* produisant des spores (microscope optique x 400). 101

III.6 Photo microscopique de *Trichoderma longibrachiatum* (microscope optique x 400) 101
III.7 Photo microscopique de *Zymomonas mobilis* colorées par cristal violet (microscope optique x1000) 102
III.8 Cinétique de production d'enzymes 102
III.9 Effet de la température sur l'activité enzymatique dans différentes souches . . . 104
III.10Effet du pH sur la production d'enzymes 105
III.11Effet du taux d'inoculum sur la production d'enzymes 106
III.12Comparaison de l'activité "CMCase" et "PFase" 107
III.13Évaluation de Fermentation éthanolique sur substrats de BLC Non Traités par diverses Souches étudiées. 113
III.14Évaluation de Fermentation éthanolique sur substrats prétraités par explosion à vapeur par diverses Souches étudiées. 113
III.15Évaluation de Fermentation éthanolique sur substrats prétraités (physico-chimique et enzymatique) par diverses Souches étudiées. 114
III.16Cinétique de la production d'éthanol par *Aspergillus niger* 115
III.17Évolution de la croissance cellulaire au cours de la fermentation éthanolique chez *Aspergillus niger* 116
III.18Photographie électronique d'une bulle d'alginate de calcium contenant le concentré d'*Aspergillus niger* immobilisé. A) Après 1 cycle, B) Après 6 cycles. C) Détail de la surface de la perle b. (Wild MPS 45 / MPS 51 S.) Curseur = 0,1 mm. 117
III.19Rendement en éthanol et en biomasse chez la souche d'*Aspergillus niger* immobilisée pendant plusieurs cycles 117

Liste des tableaux

I.1 Types et sources des déchets solides municipaux 8
I.2 Types de déchets végétaux rejetés par divers secteurs industriels 8
I.3 Ressources de BLC et leur teneur en fibres 9
I.4 Différentes types de liaisons chimiques entre les composants du complexe lignocellulosique 10

II.1 Composés inhibiteurs de la fermentation 18
II.2 Conditions optimales pour le prétraitement à l'acide sulfurique dilué 19
II.3 Conditions du prétraitement alcalin 20
II.4 Conditions du prétraitement par des solvants organiques 21
II.5 Prétraitement microbien 27
II.6 Types de microorganismes et les enzymes synthétisées pour l'hydrolyse de BLC 29
II.7 Quelques études récentes sur la production de bioéthanol par l'application des prétraitements combinés 31

III.1 Résumé des études utilisant différentes technologies de fermentation (SHF, SSF et CBP) 37
III.2 Quelques études sur la production de bioéthanol de 2^{me} génération 40
III.3 Coût en capital fixe direct de diverses techniques de prétraitement. 42
III.4 Quelques études récentes sur l'analyse techno-économique (TEA) de la production d'éthanol à partir de différents types de biomasse lignocellulosique 43
III.5 Quelques études récentes sur l'évaluation du cycle de vie de la production d'éthanol cellulosique 45

I.1 Informations générales sur les enquêtés 59
I.2 Types des sous-produits végétaux solides générés par les unités de production . 60
I.3 Teneur en fibres des divers types de sous-produits végétaux étudiés. 64

I.4 Compositions élémentaires et proximales et valeur calorique des divers types sous-produits végétaux étudiés. 67
I.5 Matrice de corrélation entre les différentes composantes de la BLC analysées. . 68

II.1 Teneur en fibres d'un mélange de résidus des DF et des PAMs 78
II.2 Teneur en sucres et en composés phénoliques d'un mélange de résidus des DF et des PAMs 78
II.3 Comparaison des méthodes de traitement par Tukey test 88

III.1 Comparaison statistique par "Test d'Anova" de l'effet du type d'activité enzymatique et le type de la souche utilisée sur la production des enzymes. 107
III.2 Comparaison statistique par "Test d'Anova" de l'effet des facteurs cinétiques sur la production des enzymes. 107
III.3 Dosage des sucres et des composés phénoliques dans le substrat lignocellulosiques après les traitements physico-chimiques 109
III.4 Dosage des sucres et des composés phénoliques dans le substrat lignocellulosiques après traitement enzymatiques chez les trois souches microbiennes étudiées 111
III.5 Estimation des coûts pour la production de bioéthanol à partir de 100 tonnes de substrat 122

Sommaire

Avant-propos **ii**

Liste des abréviations **xvii**

Liste des figures **xix**

Liste des tableaux **xxii**

Introduction générale **1**

PREMIÈRE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE **5**

Chapitre I. Caractéristiques de Biomasse lignocellulosique **5**

I.1 Généralités 5

I.2 Ressources de biomasse lignocellulosique 6

I.2.1 Résidus forestiers 6

I.2.2 Résidus agricoles 7

I.2.3 Déchets ménagers 8

I.2.4 Déchets industriels 8

I.3 Composition de biomasse lignocellulosique 9

I.4 Structure de biomasse lignocellulosique 10

I.4.1 Cellulose 10

I.4.2 Hémicellulose 11

I.4.3 Lignine 12

Chapitre II. Prétraitement de biomasse lignocellulosique **15**

II.1 Critères de choix des méthodes de prétraitements efficaces 16

II.2 Types des prétraitements de biomasse lignocellulosique 17

II.2.1 Prétraitement chimique 17

II.2.1.1 Prétraitement acide 17
II.2.1.2 Prétraitement alcalin 19
II.2.1.3 Prétraitement par des solvants organiques 20
II.2.2 Prétraitement physique 22
II.2.2.1 Prétraitement mécanique 22
II.2.2.2 Prétraitement par micro-ondes 23
II.2.3 Prétraitement physico-chimique 23
II.2.3.1 Prétraitement par explosion à vapeur 23
II.2.3.2 Prétraitement hydrothermal 24
II.2.4 Prétraitement biologique 24
II.2.4.1 Prétraitement microbien 25
II.2.4.2 Prétraitement enzymatique 27
II.2.5 Prétraitement combiné 30

Chapitre III. Valorisation énergétique de la biomasse lignocellulosique 32

III.1 Principales voies de valorisation de biomasse lignocellulosique 33
III.1.1 Conversion thermique 34
III.1.2 Conversion thermochimique 34
III.1.2.1 Processus de gazéification 34
III.1.2.2 Processus de pyrolyse 35
III.1.3 Conversion biologique 35
III.2 Production de bioéthanol 37
III.2.1 Ressources de bioéthanol 38
III.2.1.1 Bioéthanol de 1^{re} génération 38
III.2.1.2 Bioéthanol de 2^{me} génération 39
III.2.1.3 Autres ressources de Bioéthanol 40
III.3 Analyse économique et environnementale d'un processus intégré 41
III.3.1 Analyse techno-économique de la production d'éthanol via des voies biochimiques 41
III.3.2 Évaluation du cycle de vie (LCA) de la production d'éthanol via des voies biochimiques 42

DEUXIÈME PARTIE : PARTIE EXPÉRIMENTALE 47

Chapitre I. Enquête sur la Gestion des Résidus Végétaux et Analyse de Leur Composition Chimique : Vers une Valorisation Énergétique Durable 47

I.1 Introduction . . . 48
I.2 Matériel et méthodes . . . 50
I.2.1 Zone d'étude . . . 50
I.2.2 Population cible : acteurs et intervenants dans l'exploitation de la biomasse végétale . . . 51
I.2.3 Matériel végétal . . . 52
I.2.4 Broyage et séchage . . . 52
I.2.5 Dosage des fibres . . . 54
I.2.5.1 Dosage d'hémicellulose . . . 54
I.2.5.2 Dosage de cellulose . . . 55
I.2.5.3 Dosage de lignine . . . 55
I.2.6 Dosage des sucres . . . 56
I.2.6.1 Dosage des sucres totaux . . . 56
I.2.6.2 Dosage des sucres réducteurs . . . 56
I.2.7 Dosage des composes phénoliques . . . 56
I.2.8 Compositions élémentaires et proximales . . . 57
I.2.8.1 Taux d'humidité . . . 57
I.2.8.2 Taux de cendres . . . 57
I.2.8.3 Taux de matière volatile . . . 57
I.2.8.4 Taux de carbone fixe (CF) . . . 58
I.2.8.5 Composition élémentaire . . . 58
I.2.9 Analyse statistique . . . 58
I.3 Résultats et discussion . . . 58
I.3.1 Informations générales des enquêtés . . . 58
I.3.2 Types de résidus végétaux solides . . . 59
I.3.3 État de traitement de sous-produits végétaux . . . 60
I.3.4 Obstacles de traitement des sous-produits végétaux . . . 62
I.3.5 Teneurs en fibres . . . 63
I.3.6 Teneurs en sucres et en composés phénoliques . . . 65

I.3.7 Compositions élémentaires et proximales 67
I.3.8 Analyse statistique : Corrélation entre les différents paramètres mesurés 68
I.4 Conclusion 69

Chapitre II. Prétraitement de la biomasse lignocellulosique 72
II.1 Introduction 73
II.2 Matériel et méthodes 73
II.2.1 Matériel végétal 74
II.2.2 Préparation du substrat : Séchage, Broyage et tamisage 74
II.2.3 Prétraitement acide 75
II.2.3.1 Prétraitement acide par acide sulfurique 75
II.2.3.2 Prétraitement acide par acide chlorhydrique 75
II.2.4 Prétraitement basique 75
II.2.5 Prétraitement physico-chimique : explosion à vapeur 76
II.2.6 Prétraitement biologique et enzymatique 76
II.2.6.1 Prétraitement biologique 76
II.2.6.2 Prétraitement enzymatique 77
II.2.7 Prétraitement combiné 77
II.2.8 Dosage des fibres, sucres réducteurs et composés phénoliques 77
II.2.9 Analyse statistique 77
II.3 Résultats et discussion 77
II.3.1 Composition chimique 77
II.3.2 Dosage des polysaccharides et des sucres simples 78
II.3.2.1 Prétraitement acide 79
II.3.2.2 Prétraitement alcalin 82
II.3.2.3 Prétraitement par explosion à vapeur 83
II.3.2.4 Prétraitement Biologique 84
II.3.3 Dosage de composés phénoliques 86
II.4 Conclusion 90

Chapitre III. Valorisation de la biomasse lignocellulosique : Production d'enzymes lignocellulolytiques et de bioéthanol 92
III.1 Introduction 93

III.2 Matériel et méthodes 94
III.2.1 Matériel végétal utilisé pour la production des enzymes et la fermentation alcoolique 94
III.2.2 Prétraitement : Hydrolyse et saccharification de la biomasse lignocellulosique 94
III.2.3 Détoxification 95
III.2.4 Microorganismes et Préparation de l'inoculum 95
III.2.5 Dosage des enzymes :cellulases 95
III.2.5.1 Dosage de l'activité Enzymatique 96
III.2.5.2 Optimisation de la production enzymatique 98
III.2.6 Fermentation alcoolique : Production de bioéthanol 99
III.2.7 Dosage des fibres, sucres réducteurs et composés phénoliques 100
III.2.8 Détermination de la biomasse cellulaire 100
III.2.9 Immobilisation des spores d'Aspergillus 100
III.3 Résultats et discussion 101
III.3.1 Cinétique de la production des enzymes 101
III.3.1.1 Effet de la température sur la production d'enzymes 103
III.3.1.2 Effet du pH sur la production d'enzymes 104
III.3.1.3 Effet du taux d'inoculum sur la production d'enzymes 105
III.3.1.4 Analyse statistique 106
III.3.2 Production de bioéthanol 108
III.3.2.1 Dosage des sucres et des composés phénoliques 108
III.3.2.2 Rendement en éthanol 112
III.3.3 Etude économique de production de bioéthanol à l'échelle pilote 118
III.3.3.1 Matière première pour la production de bioéthanol 118
III.3.3.2 Simulation du rendement de prétraitement 118
III.3.3.3 Simulation du rendement de l'hydrolyse enzymatique 118
III.3.3.4 Fermentation : simulation du rendement global de production d'éthanol 119
III.3.3.5 Évaluation énergétique 119
III.3.3.6 simulation du Coût de production de l'éthanol 119
III.4 Conclusion 123

Conclusion générale et perspectives **125**

Bibliographie **128**

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans un contexte de transition énergétique et de lutte contre le dérèglement climatique, la production de bioéthanol de deuxième génération à partir de la biomasse lignocellulosique est reconnue comme une voie prometteuse pour réduire notre dépendance aux combustibles fossiles. Ce type de bioénergie avec les autres ressource des énergies renouvelables (solaires, éoliennes et hydrauliques) sont devenues une véritable alternative ressource énergétique aux énergies fossiles , d'une part elles compensent les besoins énergétiques en augmentation de la population et d'autre part sont des énergies neutres en dioxyde de carbone et par conséquent, elles protègent l'environnement contre les émissions de gaz à effet de serre dues aux combustibles fossiles.

La production de bioénergie dans le monde, s'est développée considérablement dans cette dernière décennie, elle a atteint en 2020, 127 GW avec un taux de développement de plus de 30 %, mais elle reste très modeste et insuffisante, car ne représente que presque 5% de l'ensemble des ressources des énergies renouvelables (IRENA, 2021b). Malgré ce progrès remarquable, l'investissement dans ce domaine dans les pays en développement, y compris le Maroc, demeure relativement limité.

Contrairement aux biocarburants de première génération, qui utilisent des cultures alimentaires telles que le maïs et la canne à sucre, la biomasse lignocellulosique telle que le bois et les résidus agricoles, offre l'avantage de ne pas entrer en compétition directe avec la production alimentaire. Cependant, le processus de la conversion efficace de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol présente des défis, technologiques, et économiques. Ces défis incluent la complexité de la structure lignocellulosique, la récalcitrance de cette biomasse à la dégradation enzymatique, les coûts élevés associés aux procédés de conversion. Pour cela, la valorisation de la biomasse lignocellulosique nécessite une étape de prétraitement qui représente plus de 40 %

du coût total du processus de bioconversion de la biomasse (Sindhu et *al*., 2016). Cette étape du prétraitement permet de dégrader le récalcitrant complexe lignocellulosique, dont la lignine représente la principale barrière qui empêche l'accès aux polysaccharides (cellulose, hémicellulose) et de l'hydrolyser en sucres simples fermentescibles pour produire de la bioénergie(Zabed et *al*., 2019).

Le Maroc dispose d'importantes ressources naturelles de lignocellulose, notamment les résidus du domaine forestier, qui résultent de l'exploitation de plus 30 000 ha/an(Kousksou et *al*., 2015; Guedira et *al*., 2012). Il existe également des sous-produits verts issus de l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques dans plusieurs domaines médicaux, cosmétiques, et autres, dont le Maroc est l'un des pays riches en ce type de plantes(Elachouri, 2018) . Il existe d'autres ressources telles que les grignons d'olive et les résidus de la récolte des olives, dont la production annuelle d'olives atteint près de 500 000 tonnes (Ministère de l'agriculture marocaine, 2019). Cela s'ajoute aux déchets ménagers organiques résultant de l'augmentation de la consommation.

Malgré l'existence d'une quantité importante des sous-produits résultante de l'utilisation de ces ressources naturelles mais leur exploitation est presque strictement traditionnelle par exemple : les résidus forestiers « bois » sont utilisés dans la cuisson de pain et des repas au four, chauffage en hiver et en bains traditionnels (HCEFLCD, 2016). Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées principalement dans le traitement des maladies (Mikou et *al*., 2016; Bouyahya et *al*., 2021), et leurs sous-produits restent sans traitement ou utilisés comme des composts. Les grignons d'olive sont utilisés comme des combustibles et des composts naturels(Kharbouch et *al*., 2018). Quant à son utilisation dans le développement durable, elle est très limitée, car en 2020, le Maroc ne produisait qu'environ 0,1% de biogaz du total des énergies renouvelables, qui a atteint 3500 MW(IRENA, 2021a).

Le traitement et la gestion des résidus végétaux lignocellulosiques représente donc un défi crucial dans le contexte de la valorisation énergétique et de la transition vers des sources d'énergie plus durables. La présente thèse propose d'explorer plusieurs aspects de ce problème complexe, pour ce faire, nous avons travaillé sur trois axes majeurs :

- ❄ **Axe ❶ :** Cet axe a pour objectif de mener une enquête sur les pratiques actuelles de gestion et de valorisation des résidus végétaux, ainsi que sur les contraintes rencontrées par divers secteurs d'activité. Cette investigation permettra de comprendre les défis et

les opportunités associés à la valorisation énergétique durable de ces matériaux. De plus, une analyse de la composition chimique des divers résidus végétaux sera entreprise afin d'identifier les substrats présentant un potentiel énergétique important, en termes de leur teneur en cellulose, hémicellulose et lignine.

- **Axe ❷ :** Ce deuxième axe consiste à évaluer l'efficacité et les avantages des différentes approches de prétraitement sur un substrat de matières premières lignocellulosiques, en vue de déterminer les options les plus favorables pour une valorisation énergétique optimale lignocellulosique. Ces prétraitements viseront à rendre la biomasse plus accessible aux étapes ultérieures du processus de bioconversion en énergie.
- **Axe ❸ :** Le troisième axe de recherche portera sur la production d'enzymes lignocellulosiques, nécessaires pour dégrader la biomasse traitée, et sur la conversion subséquente des produits résultants en bioéthanol. cet axe visera à proposer des solutions biotechnologiques viables pour la production durable de bioéthanol à partir des résidus végétaux lignocellulosiques solides, contribuant ainsi à la diversification des sources d'énergie renouvelable.

PREMIÈRE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

CARACTÉRISTIQUES DE BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE

I.1 Généralités

La biomasse lignocellulosique (BLC), également connue sous le nom de lignocellulose est une ressource abondante et renouvelable issue des plantes produit à partir de CO_2 atmosphérique et d'eau en utilisant l'énergie solaire grâce au processus de photosynthèse. Elle se caractérise par la présence de deux polymères glucidique, la cellulose et l'hémicellulose, ainsi qu'un polymère aromatique appelé lignine, et d'autres composants présents en plus petites quantités tels que les cendres, la pectine et les protéines (Sharma et *al*., 2019) (**Figure I.1**) Comparée aux combustibles fossiles, la lignocellulose est une matière première énergétique neutre en carbone avec des réserves considérables dont la production mondiale annuelle est de l'ordre de 200 milliards de tonnes (Zhao et *al*., 2022a). La composition de la BLC varie d'une espèce végétale à une autre et provient de divers ressources.

La BLC a une longue histoire en tant que source d'énergie : pendant de nombreux siècles,Le bois et la paille étaient largement utilisés comme combustibles domestiques avant que le charbon ne commence à remplacer le bois dans les années 1910. Pendant la révolution industrielle, en raison de l'augmentation des besoins énergétiques, le bois a été progressivement remplacé par les combustibles fossiles. Cependant, à partir du milieu du XXe siècle, des problèmes liés à la pollution et à l'épuisement des combustibles fossiles ont suscité la demande de biomasse

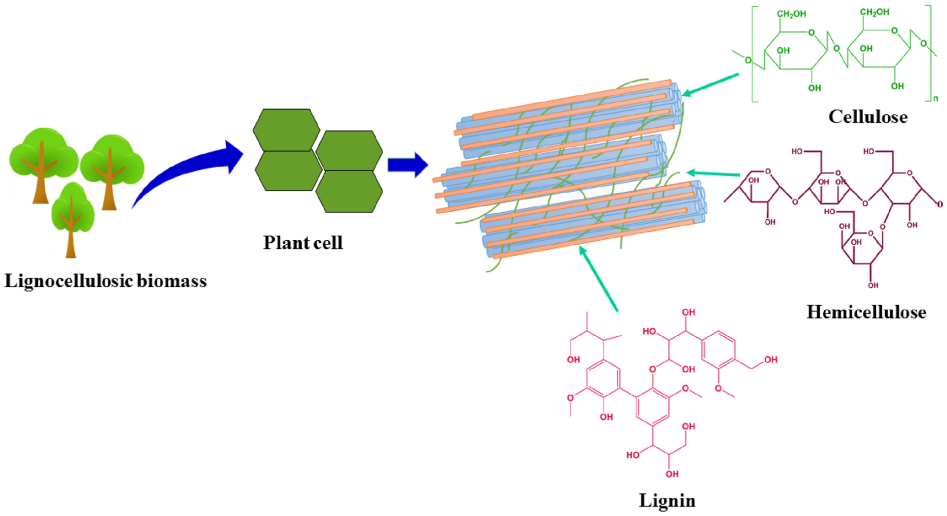


FIGURE I.1 . Schéma général représentant la structure de la biomasse lignocellulosique

pour la production d'énergie.

De plus, le coût de la matière première lignocellulosique est beaucoup moins élevé que celui des matières premières à base de sucre et d'amidon (FitzPatrick et *al.*, 2010; Zhang, 2008). Étant donné que le taux de production de la BLC est élevé et que le coût de la matière première est bas, elle constitue une source compétente pour la production de produits à valeur ajoutée et d'énergie. Dans plusieurs pays en développement, les résidus agricoles ne sont pas entièrement éliminés, et leur élimination devient une source de pollution. La biomasse résiduelle peut être utilisée comme matière première pour la génération de carburant, ce qui réduit le problème de leur gestion et offre une bonne option pour la bioraffinerie (Kapoor et *al.*, 2020).

Avant d'approfondir la discussion sur les processus de production de biocarburants, ce chapitre vise à fournir quelques notions et informations fondamentales sur la BLC.

I.2 Ressources de biomasse lignocellulosique

La biomasse lignocellulosique (BLC) peut être principalement classée en quatre catégories : les résidus forestiers, les résidus agricoles, les déchets industriels, ainsi que les déchets municipaux.

I.2.1 Résidus forestiers

Les forêts couvrent environ 7,8 % de la surface de la Terre, ce qui correspond à environ 31 % de la superficie terrestre. Parmi celles-ci, 93 % sont des forêts naturelles et 7 % sont des forêts plantées (FAO, 2014). A l'échelle mondiale, les forêts constituent la principale source

de biomasse pour l'énergie. Selon l'association mondiale de la bioénergie (Kummamuru et *al.*, 2016), 88% (en quantité d'énergie) de la biomasse utilisée dans le monde pour l'énergie provient de la forêt. En ce qui concerne l'énergie en général, l'utilisation de la biomasse ligneuse est très contrastée. D'une part, le bois est la principale source d'énergie de 2,4 milliards de personnes, principalement dans les pays à faible revenu (FAO, 2014). Par exemple au Maroc, il est généralement collecté et utilisé à diverses fins telles que la cuisson du pain et des repas au four, le chauffage pendant la saison hivernale, ou encore pour les bains traditionnels (HCEFLCD, 2016). D'autre part, dans les pays à revenu élevé, les combustibles ligneux, qui avaient été progressivement remplacés par des combustibles fossiles au cours du XXe siècle, les chercheurs et les entrepreneurs ont commencé à les explorer au cours des dernières décennies en tant que source d'énergie renouvelable (biocarburants) et de biomatériaux industriels. La BLC forestière provient de différentes sources, notamment des résidus résultants des opérations de récolte, du bois de chauffage, des résidus de scieries de traitement primaire et secondaire, et des résidus de bois urbains (Perlack, 2005).

I.2.2 Résidus agricoles

L'agriculture occupe la deuxième place dans l'ordre d'importance de l'approvisionnement en biomasse dans le monde, contribuant à environ 10% de toutes les matières premières de biomasse pour la bioénergie (Kummamuru et *al.*, 2016). Deux catégories de cultures énergétiques agricoles ont été considérées par Brown et Le Feuvre (2017) : (1) les cultures de sucre, d'amidon et d'oléagineux, cultivées pour les biocarburants liquides et (2) les plantes lignocellulosiques cultivées pour la biomasse solide, que ce soit pour les applications thermiques ou pour les biocarburants de deuxième génération. Les résidus agricoles lignocellulosiques résultent généralement de l'activité agricole et sont diversifiés, comprenant notamment les balles de riz, la paille de blé, les épis de maïs, les tiges de coton, la bagasse de canne à sucre, les coques d'arachide et de noix de coco, ainsi que d'autres matériaux. À l'échelle mondiale, la contribution des cultures dédiées à l'approvisionnement en biomasse pour la bioénergie n'a pas été bien évaluée, sauf pour le secteur des biocarburants liquides commerciaux provenant des matières premières de première génération, c'est-à-dire les cultures conventionnelles telles que le maïs, l'huile de palme et le soja.

I.2.3 Déchets ménagers

Les déchets solides municipaux (DSM) représentent une autre source potentielle de BLC. Ils comprennent les déchets post-consommation résidentiels, commerciaux et institutionnels, qui contiennent généralement des quantités importantes de matières organiques d'origine végétale pouvant servir à produire des biocarburants et des biomatériaux.

TABLEAU I.1 . Types et sources des déchets solides municipaux

Source de résidus	**Activité génératrice**	**Composition**
Résidentiel	Habitations	Déchets alimentaires, déchets de jardin, bois
Commercial et institutionnel	Magasins, hôtels, restaurants, marchés, immeubles de bureaux	bois, déchets alimentaires
Services municipaux	Aménagement paysager, parcs et autres zones de loisirs	Résidus des arbres et des paysages, déchets des zones de loisirs

(Sánchez et *al*., 2019)

I.2.4 Déchets industriels

Les déchets lignocellulosiques industriels sont produits par diverses unités industrielles, y compris l'industrie céréalière, l'industrie sucrière, l'industrie des noix, l'industrie vinicole, ainsi que d'autres secteurs de transformation alimentaire. Ils peuvent constituer une source de matière première pour la production de biocarburants (**Tableau I.2**).

TABLEAU I.2 . Types de déchets végétaux rejetés par divers secteurs industriels

Industrie de Biomasse Végétale	**Résidus**
Industrie des céréales	Balle, épis
Industrie sucrière	Bagasse, mélasse, résidus de betterave
Industrie des noix	Coques de noix et grappes de fruits vides
Huileries	Résidus de graines de colza et de soja, grignon d'olive, résidus de noyau de palme
Industrie vinicole	Résidus de raisin, de vin...
Autres transformations alimentaires	Résidus de Transformation des légumes (tomate, pomme de terre, orange, champignons, etc.) et autres ...

(Sánchez et *al*., 2019)

I.3 Composition de biomasse lignocellulosique

La lignocellulose représente environ la moitié de la matière végétale produite par la photosynthèse et constitue la ressource organique renouvelable la plus abondante dans le sol. La BLC constitue le principal composant de la paroi cellulaire des plantes. En général, la teneur en cellulose, hémicellulose et lignine dans la BLC se situe respectivement dans la plage de 35 à 50 %, 20 à 35 % et 20 à 30 % de la biomasse . Le **Tableau I.3** résume la composition de la BLC la plus couramment utilisée pour la production de bioénergie.

TABLEAU I.3 . Ressources de BLC et leur teneur en fibres

Matière première	**BLC**	**Ce(%)**	**He(%)**	**Li(%)**	**Référence**
Résidus agricoles	Bagasse de canne à sucre	50	25	25	(Su et *al.*, 2015)
	Épi de maïs	27.71	38.78	9.4	(Shinners et *al.*, 2007)
	Paille de riz	32.15	28	19.64	(Shawky et *al.*, 2011)
	Paille de blé	35.1	9.3	26.1	(Yang et *al.*, 2016)
	Canne de maïs	40.67	31.10	11.70	(Mensah et *al.*, 2021)
	Tige de coton	34.70	38.62	20,99	(Kang et *al.*, 2012)
	Bagasse de sorgho	34.80	31.28	24.77	(Camargo et *al.*, 2019)
Résidus forestiers	Bois dur : olivier taillé	41	25.70	21.80	(Sánchez-Gutiérrez et *al.*, 2020)
	Bois dur : Sciure	45	30	25	(Hakeem et *al.*, 2015)
	Bois dur : Hêtre	42.50	34.30	22.20	(Demirbaş, 2005)
	Bois tendre :Sapin	39.5	30.6	27.5	(Echresh Zadeh et *al.*, 2021)
	Bois tendre : Pin	42	23	24	(Shemfe et *al.*, 2015)
Déchets industriels et ménagers	Coquille d'arachide	38.31	27.62	21.10	(Bano and Negi, 2017)
	Peau de manioc	9.7	32.36	16.89	(Kouteu Nanssou et *al.*, 2016)
	Coquille de noix de cajou	11.50	7.35	7.45	(Nuithitikul et *al.*, 2020)
	Écorce d'orange	14.40	10.90	1.33	(Bicu and Mustata, 2011)

I.4 Structure de biomasse lignocellulosique

Il est important de comprendre la structure des divers composants des matériaux lignocellulosiques avant de procéder à la production de bioéthanol, car plusieurs facteurs entravent principalement la formation de sucres monomères à partir de la BLC et leur conversion ultérieure en bioéthanol. Par rapport à la biomasse riche en amidon, elle est considérée comme un matériau assez récalcitrant en raison de sa structure fortement lignifiée et cristalline (Woiciechowski et *al*., 2020). Les principaux constituants de La BLC : la cellulose, l'hémicellulose et la lignine se lient entre eux par des liaisons hydrogènes et d'autres covalentes (**Tableau I.4** (Faulon et *al*., 1994; Pérez et *al*., 2002)). Ces liaisons assurent les connexions intra-polymères (liaison entre deux monomères voisins d'une même chaine) et inter-polymères (liaison entre polymères de nature différente).

TABLEAU I.4 . Différentes types de liaisons chimiques entre les composants du complexe lignocellulosique

	Type de liaison	**Composants**
Liaisons intra-polymères	Éther C-O-C	Lignine, hémicellulose
	C-C	Lignine
	Liaison hydrogène	Cellulose
	Ester	Hémicellulose
Liaisons extra-polymères	Éther	Cellulose-lignine
		Hémicellulose-lignine
	Hydrogène	Cellulose-lignine
		Cellulose-hémicellulose
	Ester	Hémicellulose-lignine

I.4.1 Cellulose

La cellulose est le polymère de la BLC le plus abondant sur terre et le principal composant polysaccharidique (35-50%) de la paroi des cellules végétales. La cellulose est un homopolymère linéaire constitué d'unités de ß-D-glucopyranose liées par des liaisons ß-(1,4) glycosidiques dont la cellobiose représente l'unité répétitive fondamentale (**FigureI.2** (Noether, 1962)).

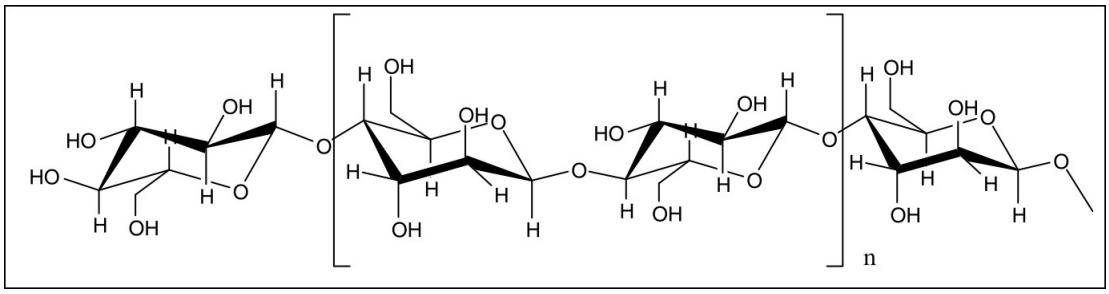


FIGURE I.2 . Structure moléculaire de la cellulose représentant l'unité cellobiose en tant qu'unité répétitive

Ces molécules de cellulose sont liées parallèlement par des liaisons hydrogènes et forment des structures appelées les microfibrilles constituées de 30 à 36 chaînes linéaires. L'association des chaînes de cellulose composée de 500 à 14000 unités de D-glucose forme des microfibrilles qui s'associent à son tour entre elles pour former des fibres de la cellulose(Robak and Balcerek, 2018).

Les fibrilles de cellulose sont noyées dans une matrice lignocellulosique qui la rend très résistante à l'hydrolyse enzymatique. Le degré de polymérisation (DP) de la cellulose est de l'ordre 2,000 à 25,000 d'unités de glucose dans le polymère el il joue un rôle crucial dans la récalcitrance de BLC(Rodrigues Mota et *al*., 2018).

Cependant, Lu et *al*. (2019) ont signalé que le DP de la cellulose était négativement corrélé à l'hydrolyse de la cellulose. par conséquent les longues chaînes de cellulose contiennent plus de liaisons hydrogène et sont difficiles à hydrolyser, tandis que les chaînes de cellulose plus courtes contiennent un système de liaisons hydrogène plus faible et sont donc censées faciliter l'accessibilité des enzymes(Meng et *al*., 2017).

I.4.2 Hémicellulose

L'hémicellulose est le deuxième composant le plus abondant de la lignocellulose et représente 20-35% de son poids(Chandel et *al*., 2018). L'hémicellulose est un hétéropolymère ramifié composé d'un mélange hétérogène de pentoses (xylose, arabinose), d'hexoses (mannose, glucose, galactose) et de sucres acides (acides 4-O-méthyl-glucuronique, galacturonique et glucuronique) , Ces sucres sont liés entre eux par des liaisons β-1,4-glycosidiques et parfois par des liaisons β-1,3-glycosidiques. Le degré de polymérisation d'hémicellulose est inférieur à celui de la cellulose . Il est de l'ordre 100-200 unités(Rodrigues Mota et *al*., 2018), mais il peut présenter un haut degré de substitutions plus ou moins complexes. L'hémicellulose est amorphe,

avec une faible résistance physique. Elle est facilement hydrolysée par des acides ou des bases diluées, ainsi que par des enzymes d'hémicellulases.

Les polymères d'hémicellulose se lient aux microfibrilles de la cellulose, à la lignine et à la pectine pour former un mélange hétérogène de pentoses et d'hexoses dans les parois cellulaires. L'hémicellulose agit comme une barrière physique limitant l'accessibilité des enzymes. Il a été signalé que l'élimination d'hémicellulose par un acide dilué ou un prétraitement par explosion à vapeur pouvait augmenter la conversion de la cellulose en améliorant l'accessibilité des enzymes à la cellulose (Auxenfans et *al.*, 2017; Chabbert et *al.*, 2018). En se basant sur les unités composant l'hémicellulose, on peut classer ce dernier en quatres groupes principaux : xylane, mannane, xyloglucane et β-glucane(Peng et *al.*, 2012). Le mannane est le composant hémicellulosique dominant chez les plantes résineux, tandis que le xylane est le plus abondant chez les plantes herbacées et les feuillus. Étant donné l'abondance du xylane dans la biomasse lignocellulosique, des efforts ont été faits pour élucider sa structure. En général, le xylane est le principal constituant de l'hémicellulose qui se compose de résidus de xylose reliés entre eux par des liaisonsβ-(1,4)(figureI.3 (Chen et *al.*, 2022))(Sun et *al.*, 2022). Cette unité phénylpropanoïde de la lignine est la principale barrière contre la dégradation de BLC, car elle fournit un support structurel, une imperméabilité et une protection contre l'invasion microbienne (Sharma et *al.*, 2019). La lignine contribue fortement à la récalcitrance de BLC en liant les hémicelluloses à la cellulose dans la paroi cellulaire.

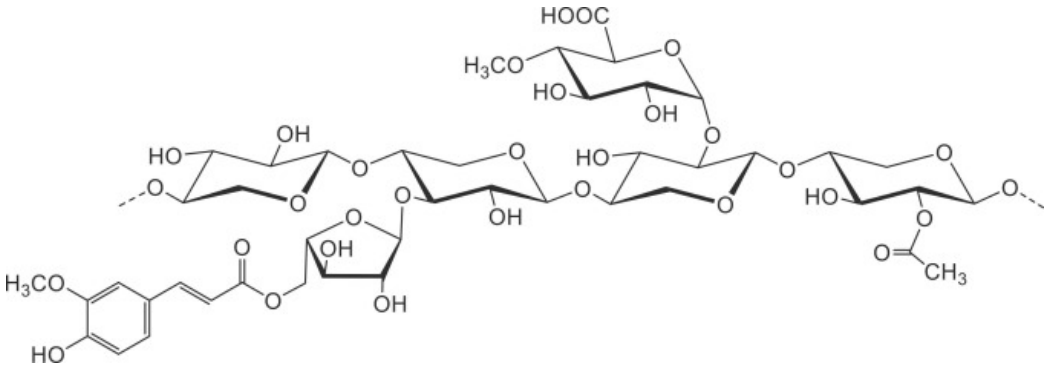


FIGURE I.3 . Structure moléculaire d'hémicellulose

I.4.3 Lignine

La lignine est la fraction non-polysaccharidique la plus abondante de la lignocellulose représentant 20 à 30% de la biomasse végétale (Zheng et *al.*, 2014). La lignine est un polymère aromatique complexe , amorphe, insoluble dans l'eau, possédant un poids moléculaire

élevé (Camargo et *al.*, 2019). Elle est lié à la cellulose et à l'hémicellulose dans la paroi cellulaire et contribue fortement à la récalcitrance de la BLC (Lyczakowski et *al.*, 2017). Elle est constituée d'unités de phénylpropane : l'alcool paracoumarylique (4-hydroxycinnamique), l'alcool conifférylique (4-hydroxy-3-méthoxycinnamylique), l'alcool sinapylique (4-hydroxy-3,5-diméthoxycinnamylique). L'incorporation des ces monolignols dans un polymère de lignine en croissance se produit par un couplage des monolignols via des liaisons intermédiaires β-O-4 (éther β), phénylcoumarane β-5, résinol β-β et éther biphenyl 4-O-5. (**Figure I.4**). Cette unité phénylpropanoïde de la lignine est la principale barrière contre la dégradation de BLC, en fournissant un support structurel, une imperméabilité et une protection contre l'invasion microbienne (Sharma et *al.*, 2019).

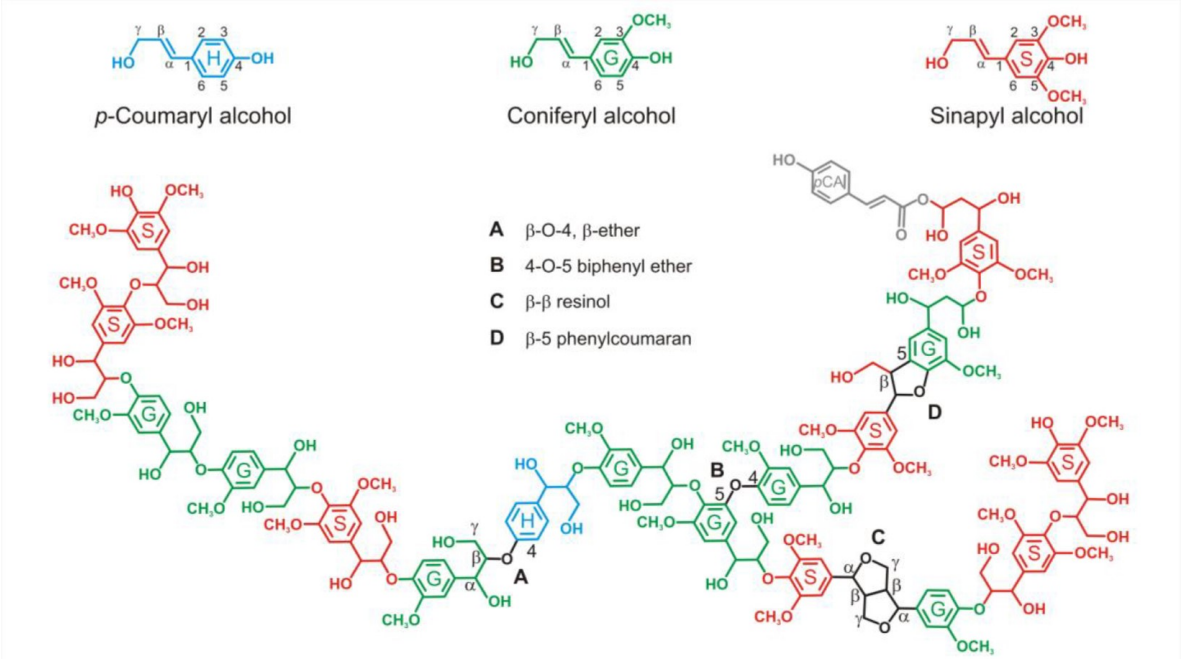


FIGURE I.4 . Structure moléculaire des principaux constituants de la lignine

Il est bien connu que la lignine joue un rôle négatif dans la conversion de la cellulose, influencé par plusieurs facteurs tels que la teneur totale en lignine, la composition et la structure de la lignine (Zheng et *al.*, 2014; Hendriks and Zeeman, 2009). La lignine bloque l'accès des enzymes à la cellulose et elle peut adsorber les cellulases et des autres enzymes pendant l'hydrolyse enzymatique (**Figure I.5**) en raison de ses caractéristiques structurelles hydrophobes, notamment la liaison hydrogène, les groupes méthoxyles et les structures polyaromatiques (Saini et *al.*, 2016).

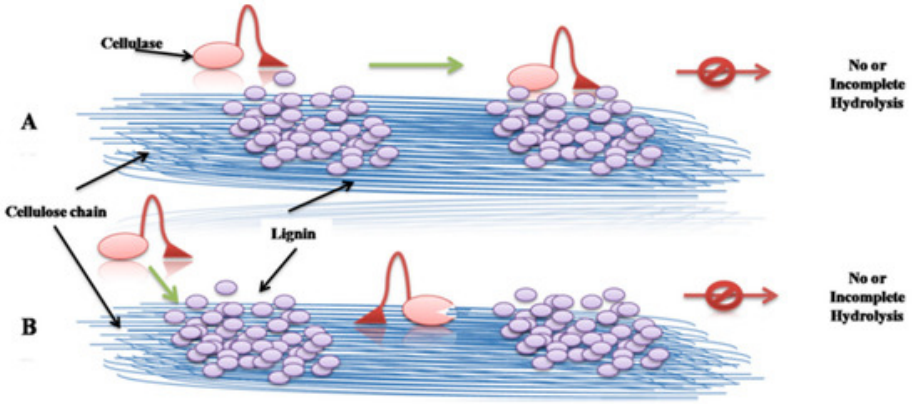


FIGURE I.5 . Inhibition de l'accessibilité de la cellulase par la lignine :(A) adsorption de la cellulase sur la lignine,(B) blocage physique de la cellulase par la lignine

CHAPITRE II

PRÉTRAITEMENT DE BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE

La valorisation et la bioconversion de BLC est une approche plus respectueuse de l'environnement et plus durable. Cependant, la dégradation de la matière lignocellulosique est obstruée par la présence de la lignine qui protège la cellulose et l'hémicellulose. Par conséquent, une étape de prétraitement est nécessaire pour décomposer la structure récalcitrante de la BLC et hydrolyser les polysaccharides de la cellulose et de l'hémicellulose en sucres simples en vue de leur bioconversion efficace en éthanol. L'étape de prétraitement représente à peu près plus de 20% du coût total de production de l'éthanol et peut être considérée comme l'une des étapes les plus coûteuses en termes d'investissement(Pant et *al.*, 2022). Selon la nature de la technique utilisée pour la dégradation de la BLC, le prétraitement peut être physique, chimique, physico-chimique ou biologique (**Figure II.1**).

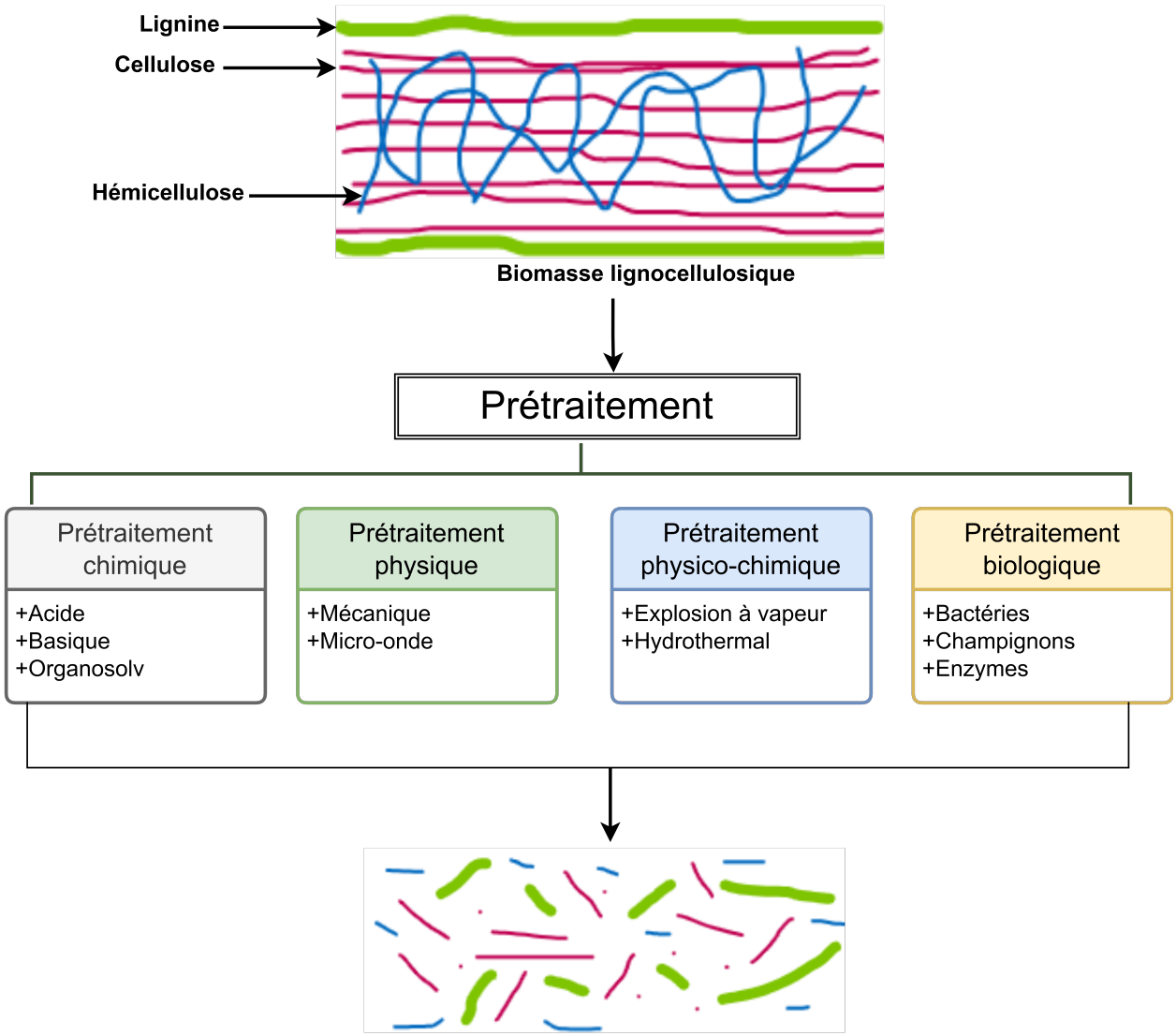


FIGURE II.1 . Différentes méthodes de prétraitement de BLC

L'objectif de ce chapitre est de donner un aperçu des différentes méthodes de prétraitement de la BLC utilisées pour la production de bioéthanol.

II.1 Critères de choix des méthodes de prétraitements efficaces

Le choix d'une méthode efficace de prétraitement doit prendre en considération les critères suivants(Bhutto et *al.*, 2017) :

- **Le coût du traitement** : un procédé de prétraitement efficace doit avoir un faible coût d'investissement et d'exploitation. L'utilisation de matériaux coûteux (catalyseur, réactifs, solvants,matières premières) pendant le prétraitement doit être évitée.
- **La Performance énergétique** : une méthode adéquate doit avoir une faible demande énergétique. Les technologies de prétraitement qui nécessitent une réduction de la taille

des déchets sont indésirables. Les technologies qui traitent des matières premières de grande dimension donnent un meilleur rendement énergétique et l'efficacité globale du processus.

➢ **La Présence des inhibiteurs** : l'utilisation de produits chimiques doit être réduite au maximum, voire totalement évitée, car ils interfèrent lors de l'hydrolyse et de la fermentation.

➢ **Un rapport coût-efficacité** : doit permettre de récupérer la plupart des composants lignocellulosiques sous une forme utilisable. Le prétraitement doit permettre d'obtenir une quantité élevée de sucres de cellulose et hémicelluloses fermentescibles. Un procédé de prétraitement rentable doit améliorer la formation de sucres dans la phase ultérieure de l'hydrolyse enzymatique en réduisant la dégradation des hydrates de carbone et la formation d'inhibiteurs de l'hydrolyse et de la fermentation.

II.2 Types des prétraitements de biomasse lignocellulosique

II.2.1 Prétraitement chimique

Le prétraitement chimique regroupe principalement le prétraitement acide, basique et par des solvants organiques.

II.2.1.1 Prétraitement acide

Le prétraitement acide permet d'augmenter l'accessibilité des enzymes aux fractions cellulosiques en solubilisant la fraction hémicellulosique de la biomasse (Alvira et *al.*, 2010; Pedersen and Kines, 2011). Des acides dilués et concentrés ont été utilisés pour le prétraitement de BLC, mais l'utilisation d'acides concentrés est déconseillée car elle est toxique, corrosive, dangereuse et nécessite des équipements et des matériaux coûteux, et il y a toujours un risque de formation de composés inhibiteurs (tels que les aldéhydes, les acides phénoliques et l'hydroxyméthylfurfural) (Rajan and Carrier, 2014; Talebnia et *al.*, 2010).

TABLEAU II.1 . Composés inhibiteurs de la fermentation

Composés inhibiteurs	Source	Mode d'action	Effet
Furfurals et HMF	Hydrolyse des sucres	Inhibe les enzymes glycolytiques et l'alcool déshydrogénase	Phase de latence prolongée de microorganismes
Acides faibles	Hydrolyse de l'hémicellulose et acétylation de la lignine	Diffusion rapide des molécules non dissociées à travers la membrane plasmique	Phase de latence prolongée de microorganismes
Composés phénoliques	Dégradation de la lignine et des sucres	Provoque une partition dans la membrane biologique	Perte d'intégrité membranaire et de matrice enzymatique

(Periyasamy et *al*., 2023)

De plus, l'acide concentré doit être récupéré et recyclé après hydrolyse pour rendre le procédé économiquement rentable (Gírio et *al*., 2010). En revanche, le prétraitement avec de l'acide dilué s'est avéré plus efficace en raison de l'utilisation des conditions moins sévères.ainsi que la génération de moins des composés inhibiteurs de la fermentation (Hendriks and Zeeman, 2009). Le prétraitement à l'acide dilué s'est également avéré adapté à une large gamme de matières premières, notamment le bois tendre, le bois dur, les cultures herbacées, les résidus agricoles, et les déchets solides municipaux (Chung et *al*., 2005).

Divers acides utilisés pour le prétraitement de différents BLC , y compris l'acide sulfurique, l'acide nitrique, l'acide chlorhydrique, l'acide phosphorique, l'acide acétique et l'acide oxalique (Singh et *al*., 2015). Parmi ces produits chimiques, l'acide sulfurique dilué est la plus utilisé , car il s'agit d'un produit chimique peu coûteux, très actif et disponible, et ainsi présente peu de risques néfastes sur l'environnement (Chandel et *al*., 2011; Zhu and Jeffries, 2011). Le **Tableau II.2** représente les conditions optimales (température, temps du traitement et concentration en acide) du prétraitement de la BLC par l'acide sulfurique dilué.

Bien que l'importance du prétraitement acide sur l'augmentation du rendement de la conversion ultérieure de la cellulose en sucre par hydrolyse enzymatique , celui-ci ne permet pas d'éliminer complètement la lignine qui est censée précipiter à la surface de la cellulose et inhiber le processus d'hydrolyse en se liant aux enzymes de la cellulase (**Figure I.5**) et en bloquant le processus de la conversion des polysaccharides en monosaccharides fermentescibles (Zhang

TABLEAU II.2 . Conditions optimales pour le prétraitement à l'acide sulfurique dilué

Temp ($^{\circ}C$)	**Temps (Min)**	**Concentration acide (%)**	**Rendement en xylose (%)**	**Rendement en glucose (%)**	**Références**
170	30	2.2	75	97	(Zhu and Jeffries, 2011)
140	30	1.2	83	-	(Redding et *al.*, 2011)
120	43	2.0	77	8.4	(Lu et *al.*, 2007)
160	40	0.5	93.1	11.8	(Shen and Wyman, 2011)
125	30	0.5	-	78.1	(Cai et *al.*, 2012)
147	30	1.53	69	26	(Baboukani et *al.*, 2012)

and Lynd, 2004). Il serait donc préférable de combiner le prétraitement acide par un autre traitement afin de mieux hydrolyser enzymatiquement et biologiquement les polysaccharides de la BLC.

II.2.1.2 Prétraitement alcalin

Parmi les divers prétraitements chimiques, le prétraitement basique ou alcalin est une méthode largement utilisée pour améliorer l'hydrolyse enzymatique de diverses biomasses lignocellulosiques par l'élimination de la lignine du complexe lignocellulosique. Les hydroxydes de sodium (NaOH), de calcium ($Ca(OH)_2$) et d'ammonium (NH_4OH) sont les réactifs fréquemment utilisés pour le prétraitement alcalin (**Tableau II.3**) :

- L'hydroxyde de sodium attaque la liaison entre la lignine et l'hémicellulose en rompant la liaison éther-ester dans la structure du complexe lignocellulosique et permet aussi le clivage des liaisons ester et carbone-carbone (C-C) dans les molécules de lignine (acide férulique) (Kim et *al.*, 2016).
- Le prétraitement alcalin avec l'hydroxyde d'ammoniac sert à l'élimination de la lignine et la modification de la structure des composants du complexe lignocellulosique. Sous forme aqueuse, il provoque un gonflement de la biomasse et par conséquent affecte le degré de cristallinité des polysaccharides (cellulose et hémicellulose) de la BLC (Kim et *al.*, 2009).

➢ L'hydroxyde de calcium élimine la plupart des groupes acétyle et environ 30 % de la lignine de la BLC. Bien que son effet n'est pas fort par rapport aux prétraitement par NaOH et (NH_4OH, mais il s'agit d'un procédé simple et peu coûteux (Kim, 2013).

TABLEAU II.3 . Conditions du prétraitement alcalin

Réactif	**Conditions de traitement**	**Effets majeurs (%)**
Hydroxyde Sodium (NaOH))	0,5-10,0% de NaOH ; 60-180 $°C$; 5-60min	Dissolution de l'hémicellulose à 50%, 60-80% de délignification, difficulté de récupération du NaOH
Hydroxyde Calcium ($Ca(OH)_2$)	0,05–0,15 g $Ca(OH)_2$/g-biomasse ; 25–130 $°C$, 1 h–8 semaines	Dissolution de l'hémicellulose de 20 à 40 % ; 60–80% délignification ; désacétylation ; Faible besoin en énergie
Hydroxyde Ammonium (NH_4OH)	5–30 % ammoniac ;30–210$°C$; 5–60 min ;pression (2–17 atm)	Solubilisation de l'hémicellulose de 10 à 50 % ; 0 à 80 % de délignification

(Kim et *al*., 2016)

Ces réactifs sont moins chères par rapport aux réactifs acides tels que l'acide sulfurique. Les prétraitements alcalins sont effectués dans des conditions plus douces, parfois même à température ambiante (**Tableau II.3**). En général, le prétraitement alcalin est peu couteux, non corrosif et plus efficace sur les bois durs, les cultures herbacées et les résidus agricoles à faible teneur en lignine que sur les bois tendres à forte teneur en lignine (Deejing and Ketkorn, 2009; Galbe and Zacchi, 2012).

II.2.1.3 Prétraitement par des solvants organiques

Le Prétraitement par des solvants organiques consiste à mettre en jeu un solvant organique pour éliminer la lignine afin de faciliter l'hydrolyse enzymatique du reste du complexe lignocellulosique. Il peut être effectué avec un mélange de solvants organiques ou aqueux-organiques, avec ou sans catalyseur tel que H_2SO_4 ou HCl. Les solvants organiques les plus utilisés dans le PO sont : Le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'éthylène glycol, le tri-éthylène glycol et l'alcool tétrahydrofurfurylique (Sun and Cheng, 2002a). Le PO élimine considérablement la lignine (**Tableau II.4**) et entraîne une solubilisation presque complète de l'hémicellulose en hydrolysant :

➢ Les liaisons internes de la lignine, ainsi que les liaisons ester de l'éther et des acides 4-Ométhylglucuronique entre la lignine et l'hémicellulose.

➢ Les liaisons glycosidiques dans l'hémicellulose, et partiellement dans la cellulose en fonction des conditions du procédé de traitement (Zhao et *al.*, 2022b).

TABLEAU II.4 . Conditions du prétraitement par des solvants organiques

Type de BLC	**Conditions du traitement**	**délignification (%)**	**Digéstibilité**	**Référence**
Mélange de sciure de bois résineux (sapin de Douglas, pin sylvestre, sapin,épicéa)	Ethanol ; 0,25 % (p/p) H_2SO_4 ; 175 °C ; 60 min	>80%	ND	(Alio et *al.*, 2019)
Populus trichocarpa	Éthanol ; 1% (p/p) H_2SO_4 ; 180°C ; 60 min	95.1%	>90% après 72 h avec 25 FPU de cellulase et 50 CBU de β-glucosidase/g de glucane	(Yao et *al.*, 2018)
Résidus de canne à sucre	Acétone ; glycérol à 80 % (v/v) ; acide oxalique à 300 mM ; 170°C ; 40 min	83.9%	78,1 % sur la base de substrat prétraité après 72 h	(Chotirotsukon et *al.*, 2019)
Canne de maïs	Méthanol à 100 % ; 10 % (p/v) NaOH ; 80 °C ; 60 min	55%	97,2 % après 72 h avec 15 FPU/g de canne de maïs	(Yuan et *al.*, 2018a)
Paille de blé	Éthanol à 60% ; 170 °C ; 120 min	48.4%	88% après 72 heures avec 30 FPU/g glucane	(Kim et *al.*, 2018)
Bagasse de sorgho	Butanol à 25% ; 200 °C ; 60 min ; 0.5% H_2SO_4	>60%	97% avec 10 FPU/g	(Teramura et *al.*, 2018)
Tiges de coton	Acide formique à 100 % ; H_2O_2 à 2 % (p/p), 80 °C ; 60 min	81.2%	ND	(Dimos et *al.*, 2019)

ND : Non disponible

II.2.2 Prétraitement physique

II.2.2.1 Prétraitement mécanique

Le broyage, l'ébranchage ou le déchiquetage et le fraisage figurent parmi les diverses méthodes de prétraitement mécanique employées pour réduire la taille des particules de la BLC (Zhao et *al*., 2022a). La réduction de la taille des particules modifie l'ultrastructure, augmente la surface disponible et diminue le degré de polymérisation et la cristallinité de la cellulose ce qui améliore sa digestibilité (Putro et *al*., 2016; Barakat et *al*., 2014). l'ébranchage réduit la taille de la biomasse à 10–30 mm, tandis que le broyage et le fraisage peuvent réduire la taille des particules à 0,2–2mm (TA, 1996; Agbor et *al*., 2011).

Les propriétés physico-chimiques des matériaux telles que la taille initiale de la biomasse, sa teneur en humidité et les conditions de fonctionnement de l'équipement déterminent les besoins en énergie (BE) pour le prétraitement mécanique (Barakat et *al*., 2014; Sun and Cheng, 2002b; Barakat et *al*., 2015). La **Figure II.2A** montre que la teneur en humidité initiale dans la BLC affecte la taille finale des particules obtenues après le broyage effectué à un BE constant et la **Figure II.2B** présente la tendance de la variation du BE en fonction de la teneur en humidité initiale lors du broyage de six types de BLC différentes (Barakat et *al*., 2015).

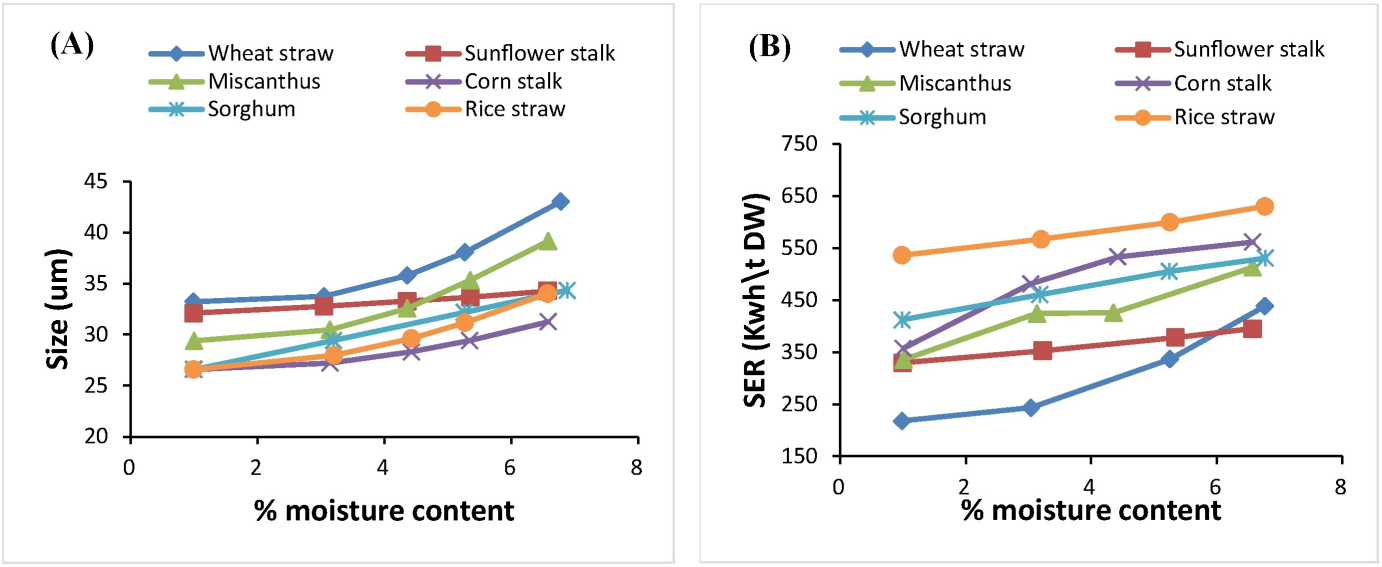


FIGURE II.2 . Effet de l'humidité sur la taille finale des particules de BLC obtenue après le broyage (A) et sur les besoins énergétiques.

II.2.2.2 Prétraitement par micro-ondes

Pendant le prétraitement par irradiation micro-ondes, l'énergie des micro-ondes est transférée à la biomasse, ce qui entraîne un chauffage rapide. Les micro-ondes ont la capacité d'altérer l'ultrastructure de la cellulose en dégradant l'hémicellulose et la lignine, tout en améliorant l'accessibilité enzymatique à la BLC. Grâce à ce chauffage rapide de la biomasse, le temps de prétraitement et la quantité d'énergie nécessaire sont réduits par rapport aux méthodes traditionnelles.

Les premiers travaux qui ont appliqué les micro-ondes pour améliorer la susceptibilité enzymatique des matériaux ont été rapportés par (Ooshima et *al.*, 1984; Azuma et *al.*, 1984). Les résultats du prétraitement des bois durs (eucalyptus, peuplier) par micro-ondes ont révélé des rendements de susceptibilité enzymatique de 88 à 93 % et la production des composés inhibiteurs comme furfural était faible à des températures élevées. D'autres recherches récentes, comme celles menées par (Gabhane et *al.*, 2014), ont examiné le prétraitement acide des déchets de banane en utilisant trois sources d'énergie différentes (autoclave, PMO et ultrasons) et leur impact sur la production de sucres réducteurs après l'hydrolyse enzymatique. Les résultats ont révélé que le rendement en sucres le plus élevé (36,84 %) a été obtenu grâce au prétraitement acide par micro-ondes.

II.2.3 Prétraitement physico-chimique

II.2.3.1 Prétraitement par explosion à vapeur

Le prétraitement par explosion à la vapeur (EV) est la méthode physicochimique la plus utilisée pour le prétraitement de la BLC. Dans ce processus, la biomasse est soumise à la vapeur de haute pression (0,5-5 MPa) et à des intervalles de température entre 160 et 250 °C (Paudel et *al.*, 2017) pendant une courte période, évaluée en minutes. Ensuite, la pression est brusquement relâchée, provoquant une perturbation de la structure de la paroi cellulaire et solubilisant principalement les fractions d'hémicellulose et de lignine (Bonfiglio et *al.*, 2019). Par exemple, grâce au prétraitement par explosion à la vapeur, plus de 80 % de la lignine pourrait être éliminée des fibres de feuilles d'ananas à 215 °, 2 MPa en 5 minutes (Tanpichai et *al.*, 2019). Dans une autre étude, après un prétraitement à 200 °C et 3,4 MPa pendant 15 minutes, 90 % de l'hémicellulose du roseau a été réduite, et par conséquent, la teneur en cellulose a été considérablement augmentée de 64,48 % à 81,3 % (Lizasoain et *al.*, 2016).

Pour augmenter l'efficacité de EV, il est possible d'incorporer un catalyseur. Par exemple, l'utilisation d'un catalyseur acide comme l'acide sulfurique peut accroître la récupération des sucres issus de l'hémicellulose, réduire la formation de composés inhibiteurs et améliorer l'hydrolyse enzymatique du résidu solide (Mosier et *al.*, 2005).
l'impact environnemental réduit et l'efficacité énergétique élevée sont les principaux avantages du prétraitement à la vapeur (Alvira et *al.*, 2010; Mosier et *al.*, 2005). Cependant, le retrait incomplet de la lignine et la production de certaines substances chimiques toxiques pendant le processus sont les inconvénients de cette méthode.

II.2.3.2 Prétraitement hydrothermal

La méthode hydrothermale ou de l'eau chaude liquide (**LHW**) est un procédé de prétraitement similaire au EV, mais utilise de l'eau à l'état liquide et à des températures élevées au lieu de la vapeur pour le traitement de BLC (Saha et *al.*, 2013). Le procédé hydrothermal, largement utilisé pour éliminer les hémicelluloses et décomposer entièrement la structure de la BLC afin de favoriser l'accessibilité à l'hydrolyse enzymatique. Ce type du prétraitement offre de multiples avantages, notamment l'absence d'utilisation de produits chimiques autres que l'eau, ce qui prévient efficacement les problèmes de corrosion de l'équipement et limite considérablement la formation de composés inhibiteurs et toxiques. (Ruiz et *al.*, 2012).

Dans cette méthode, à des températures élevées,généralement comprise entre 160 et 230 $^{\circ}C$, et sous pression (>5 MPa) (Moniz et *al.*, 2014), les ions H_3O^+ générés par l'eau favorise la rupture des groupes acétyle dans les hémicelluloses pour former de l'acide acétique, qui catalyse ensuite la dégradation des hémicelluloses en oligosaccharides et monosaccharides (Vegas et *al.*, 2005). Cependant, la cellulose et la lignine insoluble dans l'acide restent presque intégralement dans la biomasse.

Ce processus s'adapte davantage aux matériaux à forte teneur en acétyle, tels que le bois dur et la plupart des résidus agricoles, où les ions H_3O^+ produits par le groupe acétyle jouent un rôle majeur dans l'hydrolyse (Yue et *al.*, 2022).

II.2.4 Prétraitement biologique

Le prétraitement biologique (PB) est l'une des méthodes les plus importantes pour le l'hydrolyse de BLC en vue de la production de bioéthanol. Ce processus de prétraitement est ef-

fectué en cultivant des microorganismes directement sur les matières premières (Prétraitement microbien) ou en utilisant des enzymes (Prétraitement enzymatique).

II.2.4.1 Prétraitement microbien

L'approche du prétraitement microbien implique l'utilisation d'un seul microorganisme ou d'un consortium de microorganismes pour traiter la BLC avant l'étape de fermentation en vue de produire du bioéthanol (**Figure II.3** (Ummalyma et *al.*, 2019)). Comparée aux méthodes chimiques, cette approche présente une alternative écologique, efficace et économique. En effet, elle ne requiert pas l'utilisation de réactifs chimiques, ne génère pas de composés dangereux ou toxiques dans l'environnement et consomme moins d'énergie (Sindhu et *al.*, 2016; Wan and Li, 2011).

Cependant, bien que prometteuse, cette méthode de prétraitement présente des limites à l'échelle industrielle. D'une part, elle nécessite un temps d'incubation plus long pour la croissance des microorganismes, ce qui entraîne un temps de prétraitement prolongé. D'autre part, les microorganismes utilisent les nutriments présents dans la BLC traitée pour leur propre croissance et métabolisme (Maurya et *al.*, 2015). En conséquence, cette approche peut être moins attrayante pour une mise en œuvre à grande échelle dans l'industrie.

Une large gamme de microorganismes (y compris les champignons et les bactéries (**Tableau II.6**) sont utilisés pour le prétraitement de la BLC afin de faciliter l'hydrolyse enzymatiques des polysaccharides en monosaccharides fermentescibles. Cependant, la nature hautement imperméable, résistante et récalcitrante de la lignine, ainsi que la nature insoluble et cristalline de la cellulose, représentent un défi redoutable pour l'hydrolyse enzymatique.

Les champignons lignocellulolytiques utilisés dans le cadre du Pm, englobent diverses espèces, notamment des Ascomycètes (tels *Aspergillus sp, Penicillium sp, Trichoderma reesei*), des Basidiomycètes incluant les champignons responsables de la pourriture blanche (comme *Schizophyllum sp, P.chrysosporium*) ainsi que les champignons responsables de la pourriture brune (par exemple *Fomitopsis palustris*) (Dashtban et *al.*, 2009; Paudel et *al.*, 2015).

Des études ont révélé que les champignons responsables de la pourriture blanche sont parmi les microorganismes les plus performants pour le prétraitement de BLC, car ils sont capables de dégrader les divers composants du complexe lignocellulosique (cellulose, hémicellulose et lignine) en sécrétant une variété d'enzymes cellulolytiques et ligninolytiques, telles que la β-

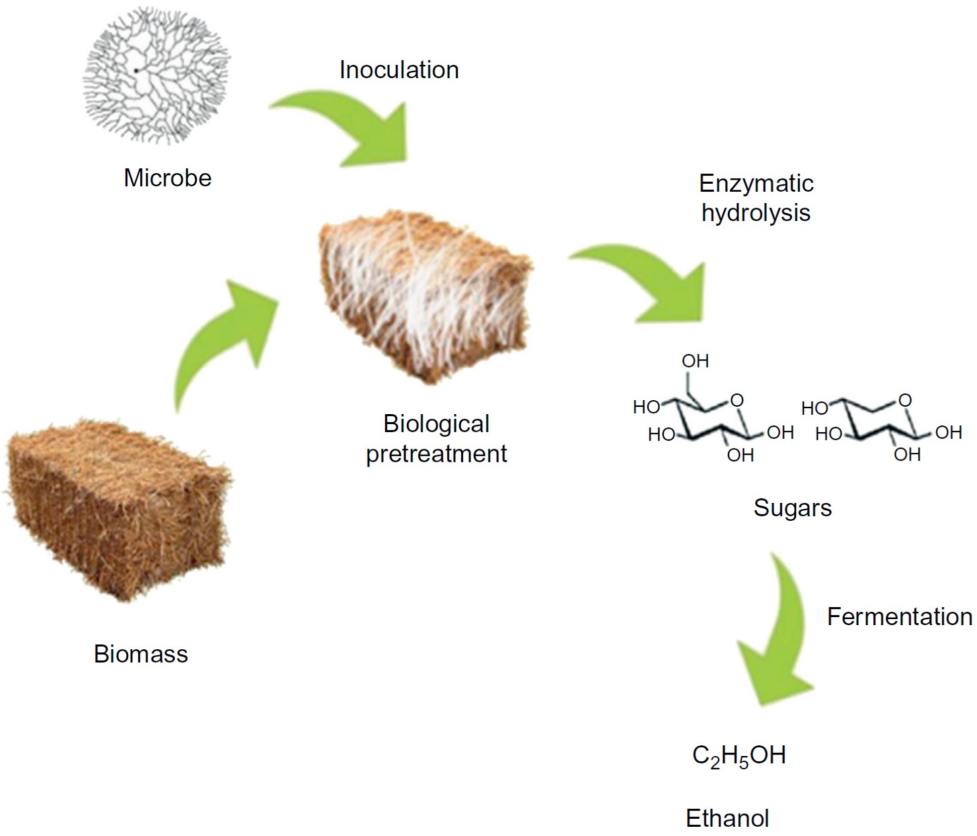


FIGURE II.3 . Schéma représentant le processus du prétraitement microbien de BLC

glucosidase, la laccase, la peroxydase et les peroxydases de manganèse (Bandounas et *al.*, 2011; Martínez et *al.*, 2005; Millati et *al.*, 2011). En revanche, les champignons responsables de la pourriture brune peuvent dégrader sélectivement la cellulose et l'hémicellulose, sans affecter la lignine. Le **Tableau II.5** ci-dessous présente un aperçu de certaines études réalisées sur différents résidus de BLC en utilisant un Pm :

De même, Les bactéries ont également leur place dans le contexte de Pm de la BLC. Certaines bactéries, telles que *Cellulomonas sp*, *Thermomonospora sp* et *Zymomonas mobilis*, présentent une activité cellulolytique significative. Elles sont largement employées pour la production d'enzymes cellulases ainsi que dans les processus de fermentation (Maki et *al.*, 2009; Dien et *al.*, 2003). Par ailleurs, d'autres souches comme *Azospirillum lipoferum* et *Bacillus subtilis* possèdent des compétences ligninolytiques, favorisant la dépolymérisation de la lignine en sécrétant des enzymes comme les laccases. Bien que d'autres bactéries anaérobies cellulolytiques, telles que *Clostridium thermocellum* et *Bacteroides cellulosolvens* présentent une activité enzymatique élevée, elles ne parviennent cependant pas à générer des concentrations enzymatiques suffisantes (Duff and Murray, 1996).

TABLEAU II.5 . Prétraitement microbien

Type substrat	Microorganismes	Conditions du prétraitement	Sucres réducteurs	% Délignification	Référence
Tige de maïs	*Phanerochaete chrysosporium*	25 °*C* ; 15 jours	ND	34.3%	(Zhao et *al*., 2012)
Paille de blé	*Irpex lacteus*	121 °*C* ; 20 min	11.5%	45.8%	(García-Torreiro et *al*., 2016)
Paille de riz	*Alkalophilic fungus*	27 °*C* ; 14 jours	24.95%	25 %	(Sreemahadevan et *al*., 2018)
Paille de blé	*T. reesei* et *T. viride*	28 °*C* ; 4 jours	22.74 g/l	ND	(Wu et *al*., 2016)

ND : Non disponible

Le prétraitement des matériaux lignocellulosiques au moyen de consortiums microbiens se révèle être une méthode efficace pour rehausser les performances de dégradation de la BLC (Zhang et *al*., 2011). Un consortium microbien regroupe diverses espèces dotées de différentes efficacités et fonctions de dégradation de la BLC, adaptées à des conditions environnementales variées.

II.2.4.2 Prétraitement enzymatique

L'hydrolyse enzymatique constitue une étape cruciale du processus de bioconversion, au cours de laquelle les polysaccharides (cellulose et hémicellulose) du complexe lignocellulosique sont décomposés pour libérer les monosaccharides fermentescibles. Le principal avantage de l'hydrolyse enzymatique par rapport à l'hydrolyse chimique réside dans l'absence de problèmes de corrosion associés (Duff and Murray, 1996). Cependant, il convient de noter que le processus enzymatique présente une cinétique nettement plus lente, tandis que l'hydrolyse chimique peut être réalisée en quelques minutes seulement.

Le prétraitement enzymatique est catalysée par des enzymes telles que les cellulases, les hémicellulases et les lignases (**Tableau II.6**), et se déroule généralement à une température comprise entre 45 et 50 °*C*, avec un pH d'environ 4,8. Ces conditions correspondent généralement aux paramètres optimaux pour l'activité enzymatique.

❑**Cellulases :** Les cellulases jouent un rôle essentiel dans le processus d'hydrolyse de la BLC. Appartenant à la famille des glycosyls hydrolases, ces enzymes ciblent spécifi-

quement les liaisons β-1,4-glycosidiques de la cellulose. La dégradation complète de la cellulose est médiée par la combinaison de trois cellulases principales (Juturu and Wu, 2014; Zhang and Zhang, 2013; Michalska et *al*., 2015) : les endoglucanases, les exoglucanases et la glycosidase. Les endoglucanases agissent sur les liaisons glycosidiques de la région amorphe de la cellulose et produisent des oligomères à longue chaîne. Les exoglucanases, ou cellobiohydrolases, agissent sur les oligosaccharides à longue chaîne produits par les endoglucanases, les transformant en oligomères à chaîne courte. Ces oligomères sont ensuite hydrolysés davantage par les β-glucosidases (Juturu and Wu, 2014). Les cellulases dérivées de *T. reesei* ont été l'objet de recherches intensives ces dernières années et sont largement utilisées tant dans les études à l'échelle du laboratoire que dans les études pilotes pour des applications de bioéthanol (Gray et *al*., 2006). Pour l'hydrolyse de la BLC, les cellulases de *Trichoderma viride* et d'*Aspergillus niger* sont également employées (Passos et *al*., 2009). La plupart des enzymes commercialement disponibles pour l'hydrolyse de la BLC sont en fait des cocktails de cellulases provenant de *Trichoderma* ou d'*Aspergillus*, complétés par des β-glucosidases provenant d'autres sources. D'autres producteurs de cellulases comprennent *Clostridium sp*, *Thermomonospora sp*, *Cellulomonas sp*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp* (Kuhad et *al*., 2011).

❑**Hémicellulases :** Les hémicellulases sont des enzymes catalysant l'hydrolyse des hémicelluloses, qui sont un groupe hétérogène de polysaccharides linéaires et ramifiés liés par des liaisons hydrogène aux microfibrilles de cellulose. Les modules catalytiques des hémicellulases sont soit des hydrolases glycosidiques capables d'hydrolyser les liaisons glycosidiques, soit des estérases de glucides, qui dégradent les groupes acétate et acide férulique (Van Dyk and Pletschke, 2012). L'hydrolyse du xylane qui est le composant principale de l'hémicellulose est médiée par l'action de plusieurs xylanases. la dégradation complète du xylane nécessitant l'action de plusieurs xylanases avec des spécificités et des fonctions diverses (Binod et *al*., 2011). Commercialement, les xylanases sont produites à partir de *T. reesei*, *A. niger*, *Humicola insolens* et *Bacillus sp*. L'hydrolyse des hémicelluloses est initiée par l'action d'endoxylanases et d'exoxylanases.

❑ **Lignases :** Les ligninases rentables et hautement sélectives vis-à-vis de la lignine sont fortement demandées dans l'industrie. La lignine est un polymère de monomères

TABLEAU II.6 . Types de microorganismes et les enzymes synthétisées pour l'hydrolyse de BLC

	Enzymes	**Espèces bactériennes**	**Espèces fongiques**	**Références**
Cellulases	Endoglucanase	*Clostridium sp*.	*T. reesei*	(Gírio et *al*., 2010; Kavitha et *al*., 2021; Hatakka and Hammel, 2011; Janusz et *al*., 2017)
	β-glucosidase	*Cellulomonas sp*	*T. viride*	
	Exoglucanase	*Bacillus sp*	*A. niger*	
	Glycosyl-transferases	*Thermomonospora sp*, *Streptomyces sp*, *F. succinogenes*, *R. albus*, *R. flavefaciens*, *Mucilaginibacter sp*. and *Pedobacter sp*	*P. helicum*, *P. betulinus*, *A. nidulans*, *A. fumigates*, *A. oryzae*, *M. grisea*, *N. crassa*, and *F. gramineum*	
Hémicellulases	Xylanases	*Bacillus sp*	*A. niger*	(Hatakka and Hammel, 2011; Montibeller et *al*., 2014)
	Mannanase	*R. flavefaciens*	*B. cinerea*	
	Endoglucanase	*P. bryantii*	*P. betulinus*	
	β-Xylosidas	*P. xylanivorans*	*A. nidulans*	
	α-Galactosidase	*F. succinogenes*	*A. fumigates*	
	α-Glucosidase	*B. succinogenes, Pedobacter sp*. and *Mucilaginibacter sp*.	*M. grisea* and *F. gramineum*	
Lignases	Laccase	*A. lipoferum*	*D. squalens*	(Saritha et *al*., 2012; Hatakka and Hammel, 2011; Kameshwar and Qin, 2016)
	Lignin peroxidase	*B. subtilis*	*G. applanatum*	
	Manganese peroxidase	*C. basilensis*	*Pleurotus sp*	
	Versatile peroxidase	*R. ornithinolytica*	*T. reesei*	
	Cellobiose	*Pseudomonas sp*	*T. longibrachiatum*	

(monolignols) liés par différentes liaisons carbone-carbone et éther. Les liaisons les plus courantes dans la lignine sont les liaisons β-β, β-0-4 et β-5 (Vanholme et *al*., 2010). En général, les champignons à pourriture blanche sont connus pour être de bons

producteurs de ligninases telles que la manganèse peroxydase, la peroxydase et les laccases (Ravindran and Jaiswal, 2016; Sahadevan et *al*., 2013; Ravindran and Jaiswal, 2016).

II.2.5 Prétraitement combiné

En se basant sur les inconvénients des méthodes de prétraitement individuelles, les chercheurs ont tenté de combiner ces méthodes afin de surmonter les problèmes et d'augmenter l'efficacité. Depuis de nombreuses années, plusieurs études ont été menées en combinant diverses méthodes de prétraitement.

Par exemple, le principal inconvénient du prétraitement fongique est la durée opérationnelle prolongée. À cet égard, combiner le prétraitement fongique avec d'autres méthodes physiques et chimiques constitue une manière de surmonter cette limitation (Shirkavand et *al*., 2016). Dans une étude, les résidus des oliviers ont été soumis à un prétraitement fongique combiné à un autre par l'acide dilué, ce qui a entraîné une amélioration du rendement de l'hydrolyse enzymatique de 34 % par rapport au prétraitement à l'acide seul (Martínez-Patiño et *al*., 2018).

Dans une autre étude Récente, un prétraitement de la biomasse de jacinthe d'eau par un acide dilué combiné à un autre biologique pour optimiser le rendement de production d'éthanol. Ils ont obtenu 430,66 mg/g de sucres réducteurs et 1,40 g/l de bioéthanol, ce qui représente une augmentation de 9,2 % et de 8,6 % par rapport à chaque méthode utilisée individuellement. Cela peut s'expliquer par le fait que le prétraitement microbien a été efficace dans la délignification, et ensuite, l'acide dilué a pu décomposer la partie hémicellulosique pour augmenter le taux de production des sucres et d'éthanol. (Rezania et *al*., 2020).

Le **Tableau II.7** présente des études récentes sur la production de bioéthanol à partir de composés lignocellulosiques en utilisant des méthodes combinées pour le prétraitement.

TABLEAU II.7 . Quelques études récentes sur la production de bioéthanol par l'application des prétraitements combinés

Matière première	**PC**	**Conditions de prétraitement**	**Sucres réducteurs**	**% Délignification**	**Taux d'éthanol**	**Référence**
Paille de riz	Micro-ondes-alcalin-acide	28 °*C* ; 14 jours	8.11 g/L	50.65	0.38 g/g	(Akhtar et *al.*, 2017)
Paille de blé	PA +EV	151 °*C* ; 16 min	Glucose :59.3% ; Xylose :55.7%	20.8	54.5 g/L	(Yuan et *al.*, 2018b)
Olivier	Fongique et acide dilué	120 °*C* ; 15 min	Glucose : 9.9%	10.3	ND	(Martínez-Patiño et *al.*, 2018)
Bagasse de canne à sucre	Pm+ Hydro-thermal	121 °*C* ; 1 h	Glucose : 0.392 g/g ; Xylose : 0.132 g/g	47	79.6%	(Wang et *al.*, 2018)

CHAPITRE III

VALORISATION ÉNERGÉTIQUE DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE

L'époque actuelle se caractérise par des avancées progressives et un développement dans tous les domaines de la vie, y compris le secteur industriel. En conséquence, on observe une augmentation considérable de la consommation d'énergie ainsi qu'une élévation des émissions de gaz à effet de serre (GES). De plus, la croissance démographique, l'industrialisation rapide et l'augmentation de la production des déchets sont quelques-uns des défis sociaux responsables de la demande énergétique croissante. Les combustibles fossiles sont principalement utilisés pour répondre à cette demande énergétique croissante. Cependant, les défis liés à l'instabilité des prix, au changement climatique et à la pollution environnementale ont intensifié l'intérêt pour rechercher de sources d'énergie alternatives et durables (Okolie et *al*., 2021).

Les technologies des énergies renouvelables telles que l'éolien et solaire ont connu des améliorations significatives au cours des dernières années. Cependant, leur utilisation reste limitée en raison de leur nature saisonnière et de la nécessité d'expansion (Couto et *al*., 2020). De plus, elles ne conviennent pas à la production de carburants liquides et gazeux. Au contraire, les biocarburants produits à partir de biomasse résiduelle sont des alternatives viables aux combustibles fossiles en raison de leur disponibilité et de leur caractère renouvelable (Okolie et *al*., 2021). Il convient de mentionner que la plupart des déchets sont éliminés dans des décharges (Bendaoud et *al*., 2022). Bien que prometteuse sur le plan économique, l'élimination des dé-

chets dans les décharges pose de sérieux défis environnementaux et est principalement responsable des émissions de GES (Sikarwar et *al.*, 2021). Par conséquent, il est impératif de développer des voies durables et respectueuses de l'environnement pour valoriser les déchets.

Il convient de noter aussi que la valorisation de la BLC présente des défis techniques et économiques, notamment en ce qui concerne l'efficacité des processus de conversion, les coûts de production et la concurrence avec les ressources fossiles. Des efforts de recherche et de développement continus sont nécessaires pour améliorer les technologies et rendre la valorisation de la biomasse plus compétitive sur le marché.

III.1 Principales voies de valorisation de biomasse lignocellulosique

La conversion de la BLC en bioénergie s'effectue par plusieurs voies, notamment (i) la conversion thermique par combustion, (ii) la conversion thermochimique par gazéification et pyrolyse, et (iii) la conversion biologique qui implique l'utilisation de biocatalyseurs. La **Figure III.1** schématise les principales voies de conversion de la BLC :

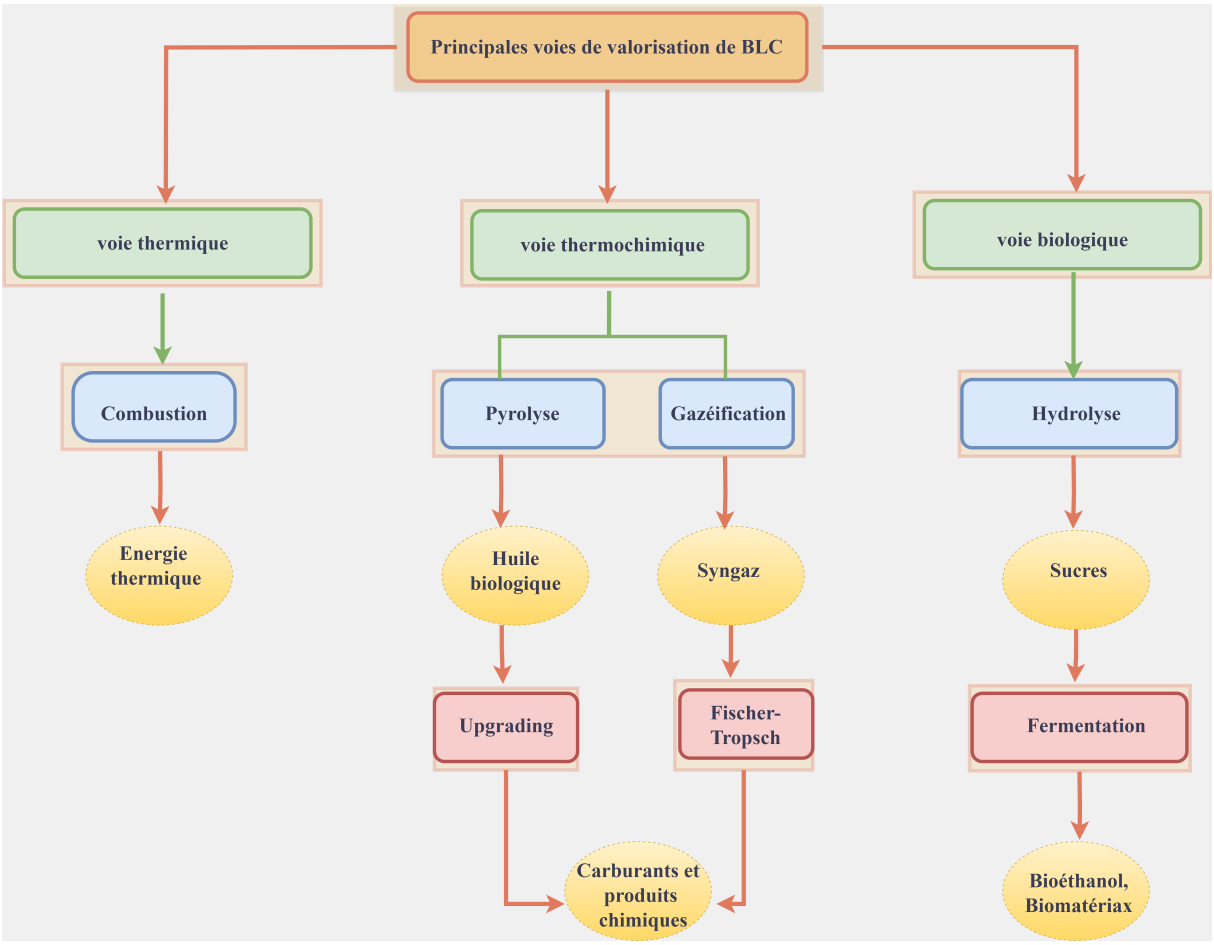


FIGURE III.1 . Principales voies de valorisation de BLC

III.1.1 Conversion thermique

Il s'agit d'un processus peu coûteux largement développé à l'échelle commerciale pour produire de l'énergie thermique qui peut être utilisée dans la production d'électricité. Cependant, ce n'est pas une méthode respectueuse de l'environnement, car les particules de cendres produites lors de la combustion posent de graves problèmes environnementaux (Brown, 2019).

Combustion

La biomasse subit une combustion directe à des températures élevées (800–1600 °C), produisant ainsi de l'énergie thermique. Lorsque le combustible réagit avec l'oxygène, de l'énergie thermique est obtenue avec des gaz de combustion composés de CO_2 et d'eau. La température de la flamme peut dépasser 1650 °C et dépend du taux d'humidité et de la valeur calorique du combustible (Brown, 2019). Une biomasse avec un taux d'humidité inférieur à 50% est préférée pour ce processus (Vicente et *al.*, 2020).

III.1.2 Conversion thermochimique

III.1.2.1 Processus de gazéification

Le processus de gazéification consiste la conversion d'un composé organique solide/liquide de la biomasse en une phase gazeuse/vapeur et une phase solide. La phase gazeuse, généralement appelée "syngaz", possède un pouvoir calorique élevé et peut être utilisée pour la production d'énergie. La phase solide, appelée "charbon" comprend la fraction organique non convertie et le matériau inerte présent dans la biomasse traitée. Cette conversion représente une oxydation partielle du carbone dans le matériau et est généralement réalisée en présence d'un agent gazéifiant, tel que l'air, l'oxygène, la vapeur d'eau ou le dioxyde de carbone (Molino et *al.*, 2016).

Le syngaz produit est un mélange gazeux de monoxyde de carbone (CO), d'hydrogène (H_2), de méthane (CH_4) et de dioxyde de carbone (CO_2), ainsi que d'hydrocarbures légers tels que l'éthane et le propane, et d'hydrocarbures lourds tels que les goudrons, qui se condensent à des températures comprises entre 250 et 300 °C. Des gaz indésirables tels que le sulfure d'hydrogène (H_2S) et l'acide chlorhydrique (HCl), ou des gaz inertes tels que l'azote (N_2), peuvent également être présents dans le "syngaz". La valeur calorique inférieure (VCI) du "syngaz" varie

de 4 à 13 MJ/Nm3, selon la matière première, la technologie de gazéification et les conditions opérationnelles (Qian et *al.*, 2013; Wu et *al.*, 2014).

Le charbon produit est un mélange de fraction organique non convertie, principalement du carbone, et de cendres. La quantité de fraction organique non convertie dépend principalement de la technologie de gazéification et des conditions opérationnelles. D'autre part, la quantité de cendres dépend de la biomasse traitée. La valeur calorique inférieure du charbon varie de 25 à 30 MJ/kg (Bulmău et *al.*, 2010), en fonction de la quantité de fraction organique non convertie.

III.1.2.2 Processus de pyrolyse

La pyrolyse est une conversion thermochimique qui se produit soit en tant qu'étape initiale de la combustion et de la gazéification, soit elle peut être réalisée elle-même pour la production de biocarburants. La pyrolyse est la décomposition de la BLC en un solide volatile et riche en carbone à une température allant de 300 à 900 °C en l'absence d'oxygène (Ibarra-Gonzalez and Rong, 2019). Les produits de ce processus sont le biohuile (sous forme liquide), le biocharbon (sous forme solide) et le gaz de combustion (sous forme gazeuse) (Devi et *al.*, 2020). Elle peut être classée davantage en pyrolyse lente, rapide et intermédiaire en fonction des conditions opérationnelles. Dans la pyrolyse lente, une basse température et un faible taux de chauffage sont nécessaires avec un temps de séjour plus long. Le charbon solide est le principal produit de cette réaction. Dans la pyrolyse rapide, une haute température et un taux de chauffage élevé sont nécessaires avec un temps de séjour court, car ces conditions aident à minimiser la formation de charbon. Dans la pyrolyse intermédiaire, un climat et un taux de chauffage modérés sont nécessaires (Das et *al.*, 2020).

III.1.3 Conversion biologique

La conversion biologique ou la bioconversion consiste à convertir la BLC en biocarburant en utilisant des biocatalyseurs soit directement, soit lors d'une étape de prétraitement préalable (voir chapitre II). Les sucres complexes sont transformés en monosaccharides qui sont ensuite fermentés pour produire des biocarburants tels que l'éthanol (Verardi et *al.*, 2020). Des enzymes ou un consortium de micro-organismes agissent comme biocatalyseurs facilitant cette conversion. Il s'agit d'un processus très sélectif avec une efficacité de conversion élevée. Cependant, c'est une méthode chronophage avec un coût de prétraitement élevé, ce qui signale l'impossi-

bilité pratique du processus (Taha et *al.*, 2016). Il existe trois méthodes utilisées pour la fermentation, notamment l'hydrolyse et la fermentation séparées (**SHF**), qui est désigné comme la conversion indirecte de la BLC prétraitée. L'hydrolyse et la fermentation simultanées (**SSF**) et le traitement biologique consolidé (**CBP**) sont considérés comme des processus de conversion directe de la BLC en biocarburants (Chen and Fu, 2016; Kawaguchi et *al.*, 2016) :

- **SHF :** dans ce processus, l'hydrolyse enzymatique et la fermentation sont effectuées dans des réacteurs différents. Chaque étape est optimisée séparément pour obtenir un rendement optimal des sucres et leur conversion en bioéthanol. Cependant, un obstacle majeur du SHF est l'inhibition de l'activité enzymatique due à l'accumulation de sucres issus de l'hydrolyse (Loaces et *al.*, 2017), ainsi Le coût élevé de la gestion des deux étapes distinctes et le risque de contamination constitue également des contraintes majeures (Jin et *al.*, 2020).
- **SSF :** pendant ce processus, l'hydrolyse enzymatique et la fermentation des sucres se déroulent simultanément dans le même réacteur (Loaces et *al.*, 2017). Cela signifie que le sucre (glucose) produit par l'hydrolyse est immédiatement converti en bioéthanol par les microorganismes pendant le processus de la fermentation. En comparaison avec le processus de SHF, L'utilisation du SSF offre l'avantage de surmonter l'inhibition de l'activité enzymatique, car il y a une conversion continue du sucre libéré (Mithra et *al.*, 2018). De plus, l'utilisation d'un seul réacteur, d'une part rend l'opération beaucoup plus simple et moins couteuse et d'autre part ne présente pas le risque de contamination grâce à la présence de l'éthanol (Dahnum et *al.*, 2015). En revanche, cette méthode présente le défi d'optimiser à la fois les conditions de l'hydrolyse enzymatique et la fermentation.
- **CBP :** Cette approche consiste à n'utiliser qu'un seul microbe ou un consortium pour la production d'enzymes, la saccharification et la fermentation en une seule étape (Toor et *al.*, 2020). Par conséquent le processus de CBP permet de réduire le coût de la conversion de la BLC en bioéthanol. par exemple,(Singh et *al.*, 2020) ont expérimenté la production de bioéthanol à partir de paille de riz en utilisant la CBP et ont observé une solubilisation de 29,4 % de la paille de riz et une concentration de 1,8 g/l de bioéthanol.

Le **Tableau III.1** présente quelques études récentes qui ont traité la conversion de la BLC en bioéthanol par l'utilisation de ces diverses technologies de fermentation :

TABLEAU III.1 . Résumé des études utilisant différentes technologies de fermentation (SHF, SSF et CBP)

Méthode	Substrat	Taux d'éthanol/Concentration	Référence
SHF	Résidu Bambou	83.1%	(Song et *al*., 2020)
SHF	Épi de maïs	17.4 g/l	(David et *al*., 2020)
SSF	Paille de blé	15.3 g éthanol/100 g biomasse	(Qiu et *al*., 2018)
CBP	Parthenium hysterophorus	81.5 mg/g biomasse	(Nargotra et *al*., 2019)
CBP	Paille de riz	1.8 g/l	(Singh et *al*., 2020)

III.2 Production de bioéthanol

La croissance démographique et le développement industriel croissant entraînent une demande accrue en énergie, mais les combustibles fossiles classiques, dont le pétrole, sont à la fois des ressources finies et émettent des gaz à effet de serre (GES) lorsqu'ils sont brûlés. Des sources d'énergie durables et respectueuses de l'environnement sont nécessaires pour répondre aux besoins énergétiques futurs du monde (Choudhary et *al*., 2017; Zhou et *al*., 2012). Les biocarburants, notamment le bioéthanol cellulosique, le Butanol et le biodiesel, suscitent donc un intérêt considérable auprès des chercheurs, des partenaires industriels et des gouvernements. En particulier, le bioéthanol est considéré comme un carburant de remplacement prometteur, susceptible de constituer une alternative à l'essence dans le secteur des transports.

La production mondiale de bioéthanol a augmenté ces dernières années,mais il est évident que la pandémie de COVID-19 a entraîné une baisse de la production mondiale d'éthanol en 2020 (**Figure III.2**). Les États-Unis sont l'une des puissances mondiales de l'industrie de l'éthanol avec une capacité de production de 56.8 milliards de litres (Md) soit 55 % en 2021, suivis par le Brésil 28.3 Md (27 %), et 13 % pour le reste du monde (RFA, 2022; Mendiburu et *al*., 2022).

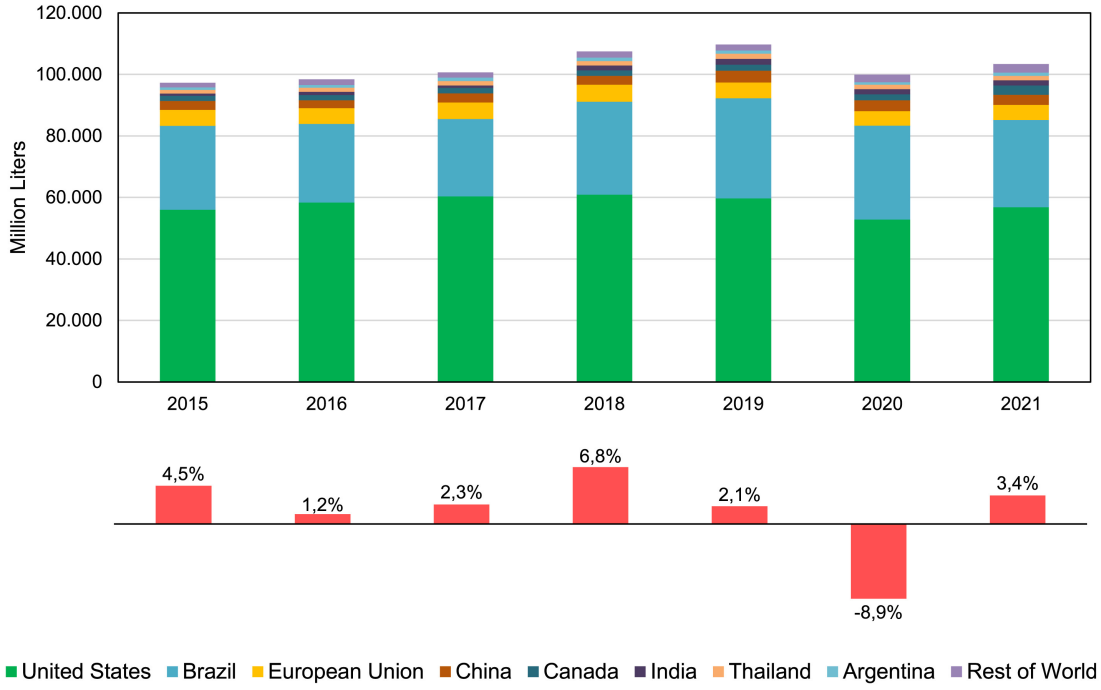


FIGURE III.2 . Production mondiale annuelle de bioéthanol entre 2015 et 2021

III.2.1 Ressources de bioéthanol

Les sources de matières premières destinées à la production de bioéthanol peuvent être classées principalement en deux catégories distinctes : les matières premières de première génération et les matières premières de deuxième génération.

III.2.1.1 Bioéthanol de 1re génération

Le bioéthanol de 1re génération est fabriqué à partir des différentes ressources à savoir les cultures sucrières telles que la canne à sucre (Mączyńska et *al.*, 2019), le blé (Patni et *al.*, 2013) et la betterave sucrière (Marzo et *al.*, 2019), ou les cultures riches en amidon telles que L'orge (Gibreel et *al.*, 2009) et le maïs (Del Carmen Fong Lopez et *al.*, 2019), au moyen d'une fermentation simple des sucres extraits de ces cultures. Le processus de production de bioéthanol de première génération varie considérablement en fonction qu'il s'agisse d'une matière première à base d'amidon ou de sucre (Mohanty and Swain, 2019).

L'utilisation de cultures alimentaires pour la production d'énergie nécessite des terres cultivables et crée des conflits avec l'utilisation alimentaire ou animale des matières premières (Liew et *al.*, 2013). Par conséquent, même s'ils représentent plus de 96 % de la production totale de

biocarburants dans le monde en 2020 (Sharma et *al*., 2020), ils ne peuvent pas devenir avec succès une source de carburant viable à long terme. Les biocarburants de deuxième génération sont mis en œuvre pour résoudre ce problème.

En résumé, si les biocarburants de première génération ont joué un rôle important dans le développement des sources d'énergie renouvelable, les limitations liées à l'utilisation de cultures alimentaires ont poussé à l'élaboration de biocarburants de deuxième génération. Ces derniers offrent un potentiel plus prometteur pour répondre aux besoins énergétiques tout en préservant la sécurité alimentaire et l'équilibre écologique.

III.2.1.2 Bioéthanol de 2^{me} génération

La production de bioéthanol de ^{me} génération repose sur les lacunes de la production de bioéthanol de 1re génération en garantissant l'utilisation durable de matières premières non alimentaires. La production d'éthanol de deuxième génération est dérivée de cultures non alimentaires principalement de BLC (voir chapitre **??**). Le processus de la fermentation de la BLC pour produire Bioéthanol de 2^{me} génération est compliqué par rapport à de celle du bioéthanol de 1re génération, car il demande un prétraitement préalable pour libérer les monosaccharides du complexe lignocellulosique et les rendre fermentescibles (voir première partie, chapitre**??**). Le **Tableau III.2** résume des études sur la production de bioéthanol de 2^{me} génération.

TABLEAU III.2 . Quelques études sur la production de bioéthanol de 2^{me} génération

Type de BLC	**Méthode prétraitement**	**Conditions**	**Inoculum**	**Rendement (%)**	**Références**
Paille de maïs	Acide	1%(w/w) H_2SO_4 ; 160°C ; 10 min	*Saccharomyces cerevisiae*	33.1 g/100 g de paille de maïs	(Yuan et *al.*, 2018c)
Canne à sucre	alcalin	0.5 M sodium carbonate solution ; 140°C ; 1 h	*Saccharomyces cerevisiae* 53,310	29.08 g éthanol /100 g	(Nosratpour et *al.*, 2018)
Paille de riz	alcalin	3 % KOH ; rapport solide-liquide de 1 :15 ; 3h ; 70°C	*Saccharomyces cerevisiae*	23.6 g/100 g masse sèche	(Zahoor et *al.*, 2021)
Tiges de coton	Solvant organique	10% d'acide formique ; 80°C ; 1h	*Saccharomyces cerevisiae*	21.5 g/100 g de substrat	(Dimos et *al.*, 2019)
Paille de riz	Fongique	5,0 g/dm3 de levure boulangère	*Scheffersomyces stipites*	24 g/100 g substrat	(Fonseca et *al.*, 2018)
Paille de maïs	Enzymatique	30 FPU/g cellulase ; 24 h	*Geobacillus*	20 g/100 g substrat	(Bibra et *al.*, 2018)
bambou	Explosion à vapeur	213.3°CC ; 2.5 MPa ; 5 min	*Saccharomyces cerevisiae*	20,3 g/100 g substrat	(Gao et *al.*, 2021)
Bambou	physico-chimique	Glycérol brut de biodiesel ; 150/160°C ; 3h	*Saccharomyces cerevisiae* (poudre)	21.22 g/100 g bambou	(Ji et *al.*, 2019)
Canne à sucre	solvants eutectiques profonds	triéthylbenzylammonium chlorure/acide lactique	Levure Angel	84.2 g/100 g Canne à sucre	(Liu et *al.*, 2021a,b)
Miscanthus géant	solvants eutectiques profonds	chlorure de choline/glycérol ;les acides silicotungstiques ; 120 °C ; 3h	*Saccharomyces cerevisiae*	17.54 g/100 g de substrat	(Guo et *al.*, 2019)

III.2.1.3 Autres ressources de Bioéthanol

Le bioéthanol de 2^{me} génération est un biocarburant produit à partir de matières premières non alimentaires, principalement des micro-algues. Contrairement aux biocarburants de 1re et 2e génération, qui utilisent respectivement des cultures alimentaires (comme le maïs et la canne à sucre) et des résidus agricoles ou forestiers, la 3e génération se concentre sur des sources renouvelables à haute productivité et à faible impact environnemental.

Les micro-algues, par exemple, sont particulièrement intéressantes car elles ont une crois-

sance rapide, peuvent être cultivées sur des terres non arables et utilisent du CO_2 pour leur croissance, contribuant ainsi à la capture du carbone. De plus, elles produisent plus de biomasse par hectare que les cultures terrestres.

Cependant, la production à grande échelle de bioéthanol de 3e génération reste en développement en raison de défis techniques et économiques, comme les coûts élevés de culture et de traitement des algues.

III.3 Analyse économique et environnementale d'un processus intégré

L'intégration de processus de conversion de BLC nécessite une évaluation approfondie de ses implications économiques et environnementales pour garantir sa viabilité et prendre des décisions éclairées sur sa mise en œuvre commerciale. L'analyse techno-économique (TEA) est couramment utilisée pour évaluer la faisabilité d'un projet, tandis que l'évaluation du cycle de vie (LCA) mesure l'impact environnemental d'un produit, processus ou service, contribuant à la sensibilisation des consommateurs, des entreprises et des gouvernements (ISO, 2006a,b). Bien que la TEA soit un outil puissant, elle devrait être combinée avec l'évaluation du cycle de vie (LCA) pour prendre des décisions éclairées concernant un projet ou une proposition (Ortiz, 2020).

III.3.1 Analyse techno-économique de la production d'éthanol via des voies biochimiques

Le coût de production de l'éthanol dépend de facteurs techniques et économiques tels que le type de matière première, les coûts de traitement des déchets, les coûts logistiques, l'efficacité de la technologie de bioconversion, les subventions gouvernementales et les revenus des co-produits (Brown et *al.*, 2014; Roy, 2014). Gubicza et *al.* (2016) ont formulé un calcul simple du coût de production de l'éthanol, intégrant le coût en capital annualisé, le coût opérationnel annuel et le revenu annuel des co-produits (Gubicza et *al.*, 2016) :

$$\text{Coût de production de l'éthanol} = \frac{\text{Coût en capital annualisé} + \text{Coût opérationnel annuel} - \text{Revenu des co-produits annuel}}{\text{Production annuelle d'éthanol}} \tag{III.1}$$

Les techniques de prétraitement avancées, l'hydrolyse enzymatique améliorée avec des enzymes moins chères et plus efficaces, ainsi que des systèmes de fermentation améliorés représentent les principaux défis de recherche pour la compétitivité de l'éthanol issu de la ligno-

cellulose par rapport à l'éthanol de première génération (Galbe et *al.*, 2007)(voir le chapitre précédent II). Chacune présente des avantages et des inconvénients qui entraînent une grande variabilité des coûts de prétraitement ainsi que des coûts de production d'éthanol. Le **Tableau III.3** représente le coût fixe direct en capital de plusieurs méthodes de prétraitement courantes. Actuellement, il n'existe pas de modèle complet à grande échelle prouvé pour guider l'industrie

TABLEAU III.3 . Coût en capital fixe direct de diverses techniques de prétraitement.

Méthode	Tiges de maïs $/m^3.jour	Herbe à balais $/m^3.jour
Eau chaude liquide	2,250	10,000
Acide dilué	12,500	22,500
Solution aqueuse	22,500	-
Chaux	11,150	28,500
Explosion à la vapeur avec SO_2	17,500	-

(Eggeman and Elander, 2005; Tao et *al.*, 2011)

et encourager les investisseurs à investir dans la production d'éthanol cellulosique. Le Tableau III.4 résume certaines des études récentes sur l'analyse techno-économique (TEA) de la production d'éthanol à partir de différents types de BLC. Toutes les données ajustées en fonction du dollar américain en utilisant l'indice annuel des prix à la production aux États-Unis.

III.3.2 Évaluation du cycle de vie (LCA) de la production d'éthanol via des voies biochimiques

L'évaluation du cycle de vie est un outil populaire et puissant pour étudier les émissions et évaluer l'influence d'un produit de sa création à sa disparition tout au long de son cycle de vie (Oliveira and Rosentrater, 2017). Le fait d'alimenter les véhicules avec un carburant dérivé de la lignocellulose fabriqué au niveau national a le potentiel de devenir une voie prometteuse pour améliorer la qualité environnementale et la durabilité des secteurs de la qualité et des transports. L'éthanol lignocellulosique peut renforcer la sécurité énergétique et contribuer de manière significative à la réduction des émissions de gaz à effet de serre. La réduction des émissions de GES est rapportée comme dépendant de la matière première, de la technologie de conversion, de l'utilisation des co-produits et des méthodes d'allocation (Roy et *al.*, 2012).

l'évaluation LCA vise à quantifier l'effet des émissions sur des processus environnementaux

TABLEAU III.4 . Quelques études récentes sur l'analyse techno-économique (TEA) de la production d'éthanol à partir de différents types de biomasse lignocellulosique

Lieu	**Matière première**	**Capacité d'éthanol (MM L/an)**	**Coût de la matière première ($/L)**	**TCI ($MM)**	**MESP ($/L)**	**Référence**
US	Paille de maïs	230.9	0.20	624.5	0.27	(Bbosa et *al.*, 2018)
Iran	Paille de blé	20.0	0.28	21.5	1.23	(Hasanly et *al.*, 2018)
Afrique du Sud	Canne à sucre	213.7	-	372.0	0.84	(Petersen et *al.*, 2018)
	Bagasse et déchets	61.5	-	250.0	0.38	
	Bagasse	196.4	-	400.0	0.66	
Sweden	sciure et copeaux	29.0	0.32	205.1	0.77	(Frankó et *al.*, 2016)
	Billons de bois écorcés	21,4	0,57	195,9	0,94	
	Branchages et cimes	15,8	0,67	209,3	1,06	
	Bois à pâte écorcé	20,3	0,65	195,9	0,99	
Colombie	Résidus de bois (écorce de *Pinus patula*)	44,5	0,82	42,2	1,08	(Moncada et *al.*, 2016)
Brésil	Bagasse de canne à sucre et déchets	36,3		31,9	0,17	(Losordo et *al.*, 2016)

définis, tels que le réchauffement climatique, l'oxydation photochimique, la diminution de la couche d'ozone, l'acidification, et d'autres (Roy et *al.*, 2012). Les facteurs d'impact, comme leur nom l'indique, sont utilisés pour quantifier les impacts environnementaux. Ils sont calculés à l'aide de formules établies (méthodes) qui convertissent les données d'inventaire en une unité commune définie pour chaque catégorie d'impact, par exemple : les "équivalents CO_2" pour le réchauffement climatique. Plusieurs logiciels ont été développés pour aider dans le LCA comme SimaPro, Bousted..., la plupart d'entre eux incluent des bases de données provenant de nombreux secteurs économiques.

Plusieurs études récentes ont examiné la performance environnementale de la production et de l'utilisation de bioéthanol lignocellulosique, avec une focalisation particulière sur la comparaison de son impact avec celui du bioéthanol à base de sucre ou de maïs, ainsi que de

l'essence. L'analyse du Cycle de Vie (LCA) a été fréquemment utilisée comme méthodologie pour cette évaluation. Cependant, en raison du nombre limité d'installations de production à grande échelle, l'incertitude persiste quant à la performance environnementale du processus proposé. La LCA offre la possibilité d'identifier les impacts potentiels dès les premiers stades de la conception du processus, permettant ainsi des décisions éclairées et des améliorations en termes de durabilité avant la mise en œuvre. Le **Tableau III.5** résume certaines études de LCA sur la production et l'utilisation de bioéthanol dérivé de différents résidus lignocellulosique.

TABLEAU III.5 . Quelques études récentes sur l'évaluation du cycle de vie de la production d'éthanol cellulosique

Matière première	**Émissions de GES et autres impacts**	**Références**
Paille de riz	— Changement climatique : 1488,7-1501,9 [kg CO_2 éq]. — Acidification terrestre : 21,8-51,9 [kg CO_2 éq]. — Eutrophisation de l'eau douce : 0,8 [kg P éq]. — Eutrophisation marine : 11,3-12,9 [kg N éq]. — Toxicité humaine : 31,3-94,8 [kg 1,4-dichlorobenzène éq]. — Toxicité de l'eau douce : 1,2-60,1 [kg 1,4-dichlorobenzène éq]. — Métaux lourds : 39,6-46,5 [$\times 10^{-3}$ kg].	(Rathnayake et *al.*, 2018)
Empty Fruit Bunches	— Changement climatique : 26,6 et 79,3 [kg CO_2 éq]. — Épuisement des ressources fossiles : 9,1 et 23,0 [kg 1,4-dichlorobenzène éq]. — Toxicité humaine : 296,7 et 416,5 [kg 1,4-dichlorobenzène éq]. — Toxicité de l'eau douce : 0,256 et 0,250 [kg 1,4-dichlorobenzène éq]. — Eutrophisation de l'eau douce : 0,028 et 0,027 [kg 1,4-dichlorobenzène éq].	(Vaskan et *al.*, 2018)
Fumier de bovins	— Changement climatique : 1,51E+00 [kg CO_2 éq]. — Acidification terrestre : -2,11E-01 [kg SO_2 éq]. — Eutrophisation de l'eau douce : 7,72E-04 [kg P éq]. — Toxicité marine : 1,37E+01 [kg 1,4-dichlorobenzène éq]. — Appauvrissement de la couche d'ozone : -7,77E-07 [kg CFC-11 éq].	(Vaskan et *al.*, 2018)

DEUXIÈME PARTIE : PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I

ENQUÊTE SUR LA GESTION DES RÉSIDUS VÉGÉTAUX ET ANALYSE DE LEUR COMPOSITION CHIMIQUE : VERS UNE VALORISATION ÉNERGÉTIQUE DURABLE

sustainability

MDPI

Article

Field Study and Chemical Analysis of Plant Waste in the Fez-Meknes Region, Morocco

Ahmed Bendaoud [1,*], Amal Lahkimi [1], Mohammed Kara [2,*], Tarik Moubchir [3], Amine Assouguem [4,*], Abdelkhalek Belkhiri [5], Aimad Allali [6], Anouar Hmamou [1], Rafa Almeer [7], Amany A. Sayed [8], Ilaria Peluso [9] and Noureddine Eloutassi [1]

[1] Laboratory of Engineering, Molecular Organometallic Materials and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, Morocco; amal.lahkimi@usmba.ac.ma (A.L.); anouar.hmamou@usmba.ac.ma (A.H.); noureddine.eloutassi@usmba.ac.ma (N.E.)
[2] Laboratory of Biotechnology, Conservation and Valorisation of Naturals Resources (LBCVNR), Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, University Sidi Mohamed Ben Abdallah, Fez 30000, Morocco
[3] Polyvalent Laboratory in Research and Development, Department of Biology, Poly Disciplinary Faculty, Sultan Moulay Slimane University, Beni-Mellal 23000, Morocco; MOUBCHIR.TARIK.fpb21@usms.ac.ma
[4] Laboratory of Functional Ecology and Environment, Faculty of Sciences and Technology, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Imouzzer Street, Fez 30000, Morocco
[5] Laboratory of Bioactives-Health and Environment, Faculty of Sciences Meknes, Meknes 50000, Morocco; abdelkhalek.belkhiri@gmail.com
[6] Laboratory of Plant, Animal and Agro-Industry Productions, Faculty of Sciences, University of Ibn Tofail (ITU), Kenitra 14000, Morocco; aimad.allali@usmba.ac.ma
[7] Department of Zoology, College of Science, King Saud University, P.O. Box 2455, Riyadh 11451, Saudi Arabia; ralmeer@ksu.edu.sa
[8] Zoology Department, Faculty of Science, Cairo University, Giza 12613, Egypt; amanyasayed@sci.cu.edu.eg
[9] Research Centre for Food and Nutrition, Council for Agricultural Research and Economics (CREA-AN), 00178 Rome, Italy; i.peluso@tiscali.it
* Correspondence: ahmedbendaoud@gmail.com (A.B.); mohammed.kara@usmba.ac.ma (M.K.); assougam@gmail.com (A.A.)

Abstract: Throughout the entire world, the biomass plant remains an important source of renewable energy. However, in Morocco, the energy recovery of this biomass is little or badly exploited compared to other solar, hydraulic, and wind resources. The aim of this study is to know the extent to which Moroccan companies are involved in the valorization of green waste and to identify among the latter those that have great energy and industrial value. The field investigation was carried out with the use of a questionnaire to different sectors of activity. The chemical analyses of the waste samples were carried out by different methods: Van Soest to investigate the fiber content, dinitrosalicylic acid and phenol-sulfuric acid to determine sugars, while the Folin–Ciocalteu method was employed for the determination of phenolic compounds. These are the ASTM standard methods to determine elemental, proximate composition, and calorific value (CV). The results of this survey showed that solid vegetable waste is diverse and represents 68.4% of the total green waste, of which 98% is not treated. Moreover, the chemical analysis displayed that forestry waste (FW), extracted parts wastes (EPW), and unused parts wastes (UPW) of medicinal and aromatic plants have high contents of cellulose (respectively 34.75, 48.44, and 54.19%) and hemicelluloses (28.44, 27.19 and 28.50%) and containing low amounts of lignin and phenolic compounds compared to olive waste (OW), olive pomace (OP), and household waste (HW). Almost all biomass wastes, except HW, have a low moisture (<12%), ash content less than 5.1%, a significant percentage of C and H, and CV between 14.5 and 21.6 MJ/Kg. The PCA analysis showed a discrepancy in terms of components between the set formed by FW, UPW, and EPW with other solid waste. In conclusion, FW, UPW, and EPW, specially can be potentially energetic biomass and valorized together in the form of a mixture.

Keywords: biomass; plant waste; renewable energy; lignocellulosic components; biomass resources

check for updates

Citation: Bendaoud, A.; Lahkimi, A.; Kara, M.; Moubchir, T.; Assouguem, A.; Belkhiri, A.; Allali, A.; Hmamou, A.; Almeer, R.; Sayed, A.A.; et al. Field Study and Chemical Analysis of Plant Waste in the Fez-Meknes Region, Morocco. *Sustainability* **2022**, *14*, 6029. https://doi.org/10.3390/su14106029

Academic Editors: Nana Peng and Chao Gai

Received: 30 March 2022
Accepted: 10 May 2022
Published: 16 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

I.1 Introduction

La biomasse végétale est une ressource naturelle abondante au Maroc, avec des vastes massifs forestiers couvrant environ 13,5 % du territoire national, soit 9,631,896 hectares. Ces forêts représentent non seulement un patrimoine naturel précieux mais aussi une source d'opportunités économiques considérables pour le pays. Traditionnellement, ces ressources ont été utilisées pour répondre aux besoins de la population, allant de la cuisson du pain au chauffage durant les hivers rigoureux, ainsi qu'à des pratiques culturelles telles que les bains traditionnels. Cependant, ces ressources ne trouvent assez des applications modernes dans le secteur industriel. (Kousksou et *al.*, 2015; Haut comissariat aux eaux et foret et à la lutte contre la désertification Marocaine, 2016; Guedira et *al.*, 2012).

Le Maroc se distingue par sa culture prometteuse de plantes médicinales et aromatiques, qui ont des applications notables dans les secteurs médicaux et cosmétiques (Kharbouch et *al.*, 2018). La culture d'oliviers est également un élément majeur de l'agriculture marocaine, avec une production annuelle atteignant près de 500 000 tonnes (Ministère de l'agriculture marocaine, 2019). Ces oliviers jouent un rôle crucial dans la production d'huile d'olive, un ingrédient de base largement consommé dans la gastronomie marocaine. De plus, le Maroc cultive diverses cultures alimentaires, notamment des céréales, des légumineuses et des fruits, qui sont des piliers essentiels de la sécurité alimentaire et de la nutrition.

Cependant, l'exploitation intensive de ces ressources naturelles génère d'importantes quantités de résidus et de sous-produits végétaux. Parmi ces résidus, on trouve les résidus forestiers, tels que les feuilles, les branches et les sciures, ainsi que les sous-produits provenant du traitement des plantes médicinales et aromatiques, résultant notamment de leur distillation. Les grignons d'olive, les résidus agricoles et les déchets ménagers constituent également des composants majeurs de ces matières résiduelles.

À l'échelle mondiale, les résidus végétaux ont été valorisés pour la production de bioénergie, y compris sous forme de bioéthanol et de biogaz, ainsi que pour la fabrication de biomatériaux industriels, en particulier dans les pays développés. Cependant, au Maroc, l'approche de valorisation de ces résidus reste en grande partie traditionnelle (Mikou et *al.*, 2016; Bouyahya et *al.*, 2021; Kharbouch et *al.*, 2018). Par exemple, en 2020, la contribution du Maroc à la production de biogaz au sein du total des énergies renouvelables ne représentait qu'environ 0,1 % du total des énergies renouvelables, qui a atteint 3500 MW (IRENA, 2021a).

Cette situation souligne un défi majeur en termes de valorisation durable de ces ressources végétales au Maroc. Alors que d'autres régions du monde tirent parti de ces résidus lignocellulosiques pour répondre à leurs besoins énergétiques et industriels, le Maroc demeure principalement orienté vers des pratiques traditionnelles. Il est essentiel d'explorer des approches plus modernes et innovantes pour valoriser ces résidus, afin de révéler pleinement leur potentiel énergétique et économique, tout en s'inscrivant dans une démarche de développement durable.

Pour comprendre la situation actuelle et les opportunités liées à la gestion des résidus végétaux, une enquête a été menée auprès des acteurs locaux dans la région de Fès-Meknès, visant à collecter des informations sur les types de sous-produits végétaux solides produits, leur traitement et leur valorisation. Cette enquête a également évalué l'engagement de ces entités envers les principes du développement durable et leur implication dans l'économie circulaire (**Figure I.1**).



FIGURE I.1 . Axes de recherche de l'enquête

En analysant les réponses recueillies, nous avons obtenu un aperçu approfondi de la situation

actuelle, des opportunités et des défis liés à la gestion des résidus végétaux dans la région de Fès-Meknès. Ces informations sont essentielles pour formuler des recommandations éclairées en vue d'améliorer les pratiques de valorisation, de promouvoir le développement durable et de maximiser les avantages de l'économie circulaire au sein de cette région.

En parallèle, ce chapitre s'est consacré à l'analyse chimique des échantillons de ces résidus. L'objectif est de déterminer leur composition, en mettant l'accent sur les matières organiques telles que la cellulose et l'hémicellulose. Ces données chimiques joueront un rôle crucial pour sélectionner les substrats lignocellulosiques ayant un fort potentiel de valorisation énergétique. Cette étape préparatoire est essentielle avant d'entamer les phases subséquentes, à savoir le prétraitement et la production d'éthanol à partir de ces échantillons de BLC.

I.2 Matériel et méthodes

I.2.1 Zone d'étude

L'étude a été menée au sein de la région de Fès-Meknès, l'une des douze principales régions du Maroc. Cette région englobe neuf provinces distinctes : Fès, Meknès, Ifrane, Taza, Taounate, Séfrou, El Hajeb, Boulemane et Moulay Yacoub. En termes de superficie, elle couvre une étendue de 40 075 40 075 km^2, ce qui équivaut à 5,7 % du territoire national. Sa population atteint 4 236 892 habitants, représentant ainsi 13 % de la population totale du pays. Parmi ces habitants, 60,52 % résident en milieu urbain.

La région de Fès-Meknès est pourvue d'abondantes ressources naturelles, parmi lesquelles figure en première ligne le domaine forestier (**Figure I.2**, (Ministère de la transition énérgetique et du développement durable, 2024)). Celui-ci s'étend sur une superficie de 1 446 160 hectares, soit 16 % de la superficie forestière totale du pays. Notamment, 80 % de cette superficie forestière se localise dans les provinces de Boulemane et de Taza. La région compte également des terres agricoles qui couvrent 1 335 639 hectares, soit 15 % de la surface agricole nationale. L'économie de la région repose essentiellement sur deux piliers. Tout d'abord, l'activité agricole joue un rôle majeur et contribue à hauteur de 21 % à la production nationale de céréales. Ensuite, l'activité industrielle, représentant 6 % de l'économie régionale, se décline principalement dans les industries agro-alimentaires, textiles et du cuir. En effet, 80 % de ces industries sont concentrées dans les provinces de Fès et Meknès (Ministère intérieure Marocaine, 2015).

Cette description contextuelle de la région Fès-Meknès met en lumière l'importance de cette

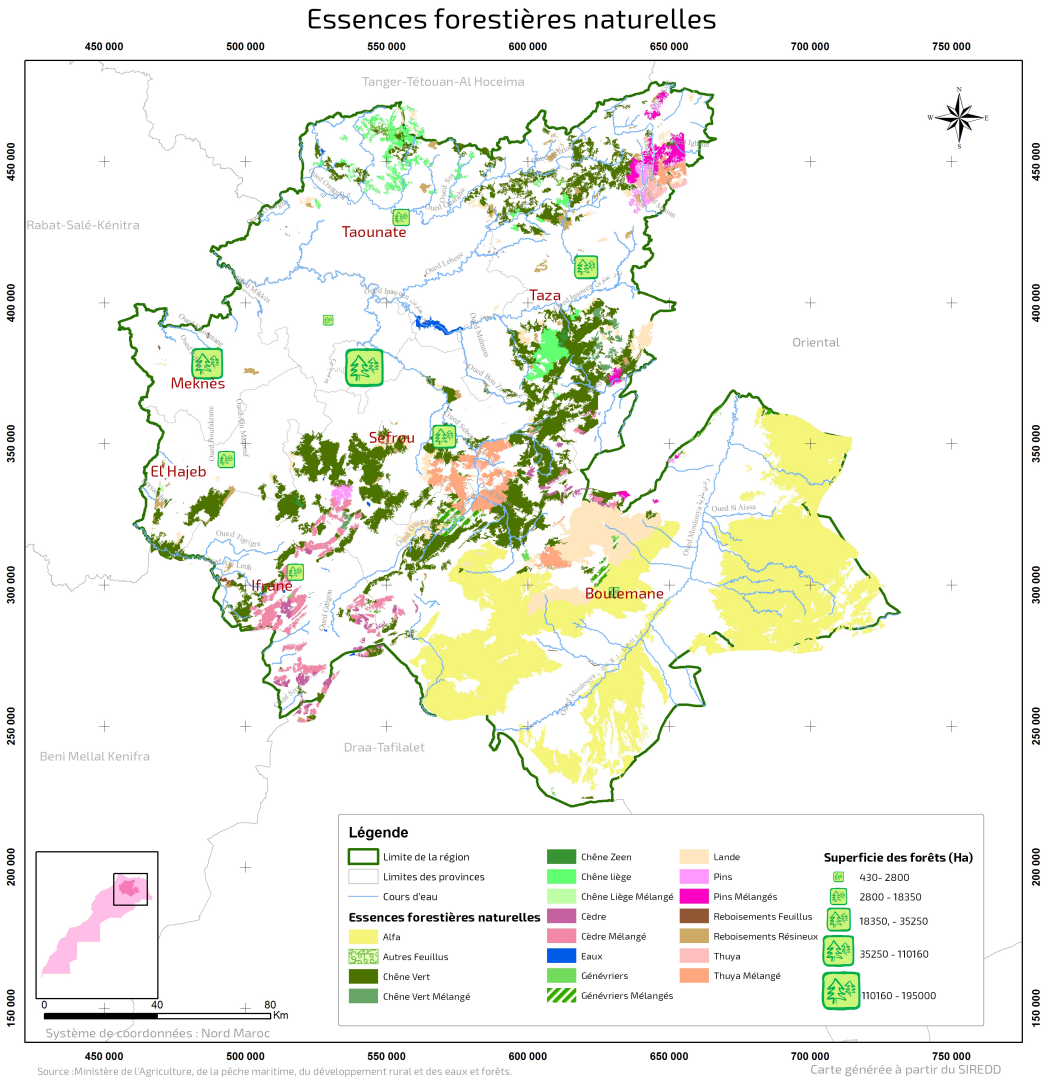


FIGURE I.2 . Essences forestières naturelles de la région Fès-Meknès

zone en termes de ressources naturelles, d'activités économiques et de dynamiques sociales, ce qui confère une base solide à l'étude menée sur la valorisation des résidus végétaux dans cette région du Maroc.

I.2.2 Population cible : acteurs et intervenants dans l'exploitation de la biomasse végétale

En amont de cette enquête, des visites de terrain ont été effectuées à diverses institutions de la région Fès-Meknès, dont la Chambre de Commerce et d'industrie, la direction Régionale des Eaux et Forêts et la Chambre d'agriculture. L'objectif de ces visites était de rassembler des données essentielles concernant les unités de production, qu'elles soient industrielles, coopératives ou établissements publics, qui intègrent des matières d'origine végétale dans leurs processus de

production. Les informations collectées comprenaient les adresses de ces unités, ainsi que le type d'activités qu'elles exercent.

Une fois ces données préliminaires recueillies sur le terrain, une recherche bibliographique a été réalisée pour compléter la base d'informations. Par la suite, une enquête a été menée à l'aide d'un questionnaire spécialement conçu (**Annexe III.4**). Cette enquête a ciblé un total de 100 établissements et industries situés dans la région Fès-Meknès. Ces établissements ont été répartis entre les secteurs privé, public et les coopératives, en fonction de leurs activités comme suit :

- ❄ Industries de bois.
- ❄ Les huileries d'olive.
- ❄ Les coopératives des plantes médicinales et aromatiques.
- ❄ Conseil régional Fès-Meknès.
- ❄ Délégation des eaux et forêts de la région Fès-Meknès

I.2.3 Matériel végétal

L'étude se concentre sur les sous-produits de certaines plantes, en particulier les plantes médicinales et aromatiques qui sont largement utilisées dans les traditions marocaines, tant avant qu'après l'extraction. Les plantes sélectionnées pour cette étude comprennent *Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis, Origanum vulgare, Mentha pulegium, Mentha spicata, Mentha piperita, Artemisia absinthium et Salvia Officinalis* (Benali et *al*., 2017)(**Figure I.3d**).

D'autres types de résidus végétaux ont également été pris en compte dans l'étude, tels que les déchets ménagers d'origine végétale provenant de légumes et de fruits (**Figure I.3a**), les résidus issus de la récolte des oliviers (branches et feuilles ; **Figure I.3b**), les grignons d'olive (GO ; **Figure I.3c**) ainsi que les résidus forestiers tels que les feuilles, les branches et les sciures de bois (DF ; **Figure I.3a**). Tous ces échantillons ont été collectés auprès de diverses industries, associations et coopératives de la région Fès-Meknès.

I.2.4 Broyage et séchage

Les échantillons collectés ont été soumis à un processus de séchage dans une étuve (**Figure I.4**) à une température de 55°C pendant une durée de 72 heures, jusqu'à ce qu'ils atteignent un poids constant. Après le séchage, les échantillons ont été broyés pour réduire leur taille, afin



(a) Déchets ménagers verts



(b) Résidus d'oliviers



(c) Grignon d'olive



(d) Résidus des plantes aromatiques et médicinales



(e) Résidus forestiers

FIGURE I.3 . Photos des échantillons de différents types des sous-produits lignocellulosiques collectés

d'obtenir une biomasse homogène avec une taille uniforme de 1 mm. Ce processus de séchage et de broyage garantit que les échantillons sont prêts pour les étapes d'analyse et d'évaluation ultérieures.



FIGURE I.4 . Etuve Boxun utilisé pour sécher la BLC

I.2.5 Dosage des fibres

La cellulose, l'hémicellulose et la lignine ont été déterminées par la méthode de Van Soest (Van Soest et *al*., 1991; Godin et *al*., 2010) :

I.2.5.1 Dosage d'hémicellulose

Initialement, nous avons traité notre substrat par "Neutral Detergent Fiber (NDF)" . Ce détergent décompose, solubilise et lessive tout le contenu cellulaire ainsi que la pectine. Le résidu résultant contient donc la totalité des fibres insolubles, comprenant l'hémicellulose, la cellulose et la lignine.

Ensuite, pour déterminer la concentration d'hémicellulose dans l'échantillon de la BLC étudié, nous avons utilisé un détergent acide (ADF) . Ce détergent décompose et solubilise tout le contenu cellulaire, ainsi que la pectine et l'hémicellulose. Le résidu contient donc principalement de la cellulose et de la lignine. La teneur en hémicellulose est déterminée selon la formule suivante :

$$\textbf{Hémicelluloses} = \frac{NDF - ADF}{\textbf{masse sèche initiale}} \tag{I.1}$$

Réactifs et procédure pour l'extraction de lignocellulose : La solution au détergent acide (ADS) est préparée en mélangeant, pour 1 litre de solution, de l'H_2SO_4 1N et 20 g/L de CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). Pour la procédure, on commence par peser 0,5±0,05

g d'échantillon, que l'on place dans un sachet filtrant (Ankom F57) préalablement codé avec un marqueur résistant et taré. Le sachet est thermosoudé à moins de 5 mm du bord, puis placé dans un récipient d'extraction avec un sachet vide servant de témoin pour la correction. On ajoute 100 mL de solution ADS par sachet (ou 2 L pour 20-24 sachets) et on fait bouillir le tout pendant exactement 60 minutes. Durant l'ébullition, les sachets doivent rester immergés dans la solution. Après cela, les sachets sont filtrés et rincés successivement avec de l'eau distillée chaude, puis avec de l'acétone. Ils sont ensuite séchés dans une étuve à 102±2°C pendant 4 heures avant d'être pesés, à froid, pour déterminer la quantité de lignocellulose obtenue.

I.2.5.2 Dosage de cellulose

Nous avons déterminé la concentration de la cellulose en traitant notre échantillon du résidu lignocellulosique par l'acide sulfurique à 72% . Ce traitement permet de dissoudre la cellulose. La teneur en cellulose est obtenue par la différence ADF-ADL selon la formule suivante :

$$\textbf{Cellulose} = \frac{ADF - ADL}{\textbf{masse sèche initiale}} \tag{I.2}$$

Réactifs et procédure : Les réactifs nécessaires incluent la solution au détergent acide (ADS) et une solution d'H_2SO_4 à 72% m/m (24 N). Pour préparer 1 litre de cette solution, il faut 1201 g (ou 653 ml) de H_2SO_4 commercial (à 98%) et 433 ml d'eau distillée. La procédure commence par le pesage de 0,5±0,05 g d'échantillon, placé dans un sachet filtrant (Ankom F57) préalablement codé avec un marqueur résistant et taré. Le sachet est thermosoudé à moins de 5 mm du bord, puis un sachet vide est inséré en tant que témoin pour la correction. H_2SO_4 à 72% est ajouté pour immerger le sachet, et le tout est laissé agir pendant 3 heures, avec agitation pour éviter la formation de grumeaux. Après cette étape, le contenu est filtré et rincé successivement avec de l'eau distillée chaude, puis avec de l'acétone. On attend l'évaporation complète de l'acétone avant de sécher dans une étuve à 102±2°C pendant 4 heures. Enfin, la lignine et la tare sont pesées à froid.

I.2.5.3 Dosage de lignine

La fraction restante après le traitement de notre substrat par les détergents NDF et ADF contient principalement la lignine (Li) ou ADL (« Acid Detergent lignin »). Elle contient aussi

une petite quantité de minéraux insolubles dans l'acide (qui peut être déterminée par minéralisation du résidu).La teneur en lignine est calculée selon la formule suivante :

$$\textbf{Lignine} = \frac{ADL}{\textbf{masse sèche initiale}} \tag{I.3}$$

I.2.6 Dosage des sucres

I.2.6.1 Dosage des sucres totaux

Les sucres totaux sont mesurés selon la méthode de Dubois et al. (Dubois et *al.*, 1951) en suivant le mode opératoire suivant. Dans une série de tubes à essai, 25 µl de l'extrait sont ajoutés à 0,5 ml de phénol (5%) et à 1,5 ml de solution d'acide sulfurique concentrée (H_2SO_4 à 98%). Le mélange est chauffé au bain-marie à 100°C pendant 5 minutes. Après refroidissement à température ambiante, la densité optique est mesurée à 490 nm. Un étalon est établi à l'aide d'une gamme de concentrations (0 à 35 mg/ml) préparée à partir d'une solution mère de glucose à 1 mg/ml.

I.2.6.2 Dosage des sucres réducteurs

La concentration en sucres réducteurs est déterminée par la méthode de l'acide dinitrosalicylique (DNS) selon Miller (Miller, 1959a). Dans un tube à essai de 20 ml contenant 3 ml de réactif de Miller, 2 ml de solution à doser sont ajoutés. Le mélange est chauffé pendant 15 minutes à 100°C, puis refroidi à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée à 640 nm.

I.2.7 Dosage des composes phénoliques

Les composés phénoliques ont été analysés par la méthode Folin-Ciocalteau en utilisant l'acide gallique comme étalon, conformément à la procédure décrite par Singleton et Rossi (Singleton and Rossi, 1965). La solution réactive est préparée en mélangeant l'acide Folin-Ciocalteu avec du carbonate de sodium. L'échantillon est dilué en série dans l'eau (1/10). La solution réactive est mélangée avec l'échantillon dilué dans un tube à essai jusqu'à homogénéisation, et le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 750 nm. Une courbe d'étalonnage est établie à l'aide de

l'acide gallique comme subs

I.2.8 Compositions élémentaires et proximales

la composition élémentaires et proximales comprennent la teneur en humidité, les cendres et les matières volatiles. Ces analyses ont été réalisées en brûlant les échantillons de biomasse dans un four à haute température :

I.2.8.1 Taux d'humidité

Le taux d'humidité est défini comme le rapport de la masse totale d'eau de la biomasse sur sa masse totale. Le taux d'humidité de notre matière première a été déterminée avant le début des expériences par le séchage de l'échantillon à 105 °C. Le pourcentage d'humidité a été déterminé en utilisant l'équation suivante :

$$\textbf{\% Humidité=} \frac{A-B}{A} \times 100 \tag{I.4}$$

- A : est la masse initiale de l'échantillon.
- B : est la masse de l'échantillon après chauffage à 105 °C.

I.2.8.2 Taux de cendres

Les cendres représentent le résidu inorganique restant après que l'eau et la matière organique ont été éliminées par combustion, ce qui fournit une mesure de la quantité totale de minéraux dans la biomasse. La détermination du taux de cendres a été conduite selon le protocole de Sluiter (2008). Le pourcentage de cendres a été calculé à partir de l'équation suivante :

$$\textbf{\%Cendres=} \frac{C}{A} \times 100 \text{(C est le poids de l'échantillon après séchage à 575 °C)} \tag{I.5}$$

I.2.8.3 Taux de matière volatile

Le pourcentage de matières volatiles (MV) contenues dans les déchets de biomasse a été déterminé à partir de l'équation suivante :

$$\textbf{\% MV=} \frac{B-D}{A} \times 100 \quad \text{(D est le poids de l'échantillon après séchage à 105°C).} \tag{I.6}$$

I.2.8.4 Taux de carbone fixe (CF)

La composition en pourcentage du carbone fixe (CF) a été calculée à partir de l'équation suivante :

$$\textbf{\% CF= 100-(\% Cendres +\% MV)} \tag{I.7}$$

I.2.8.5 Composition élémentaire

Le pourcentage de la composition élémentaire contenue dans les résidus de la biomasse mesuré par l'analyseur élémentaire a été utilisé pour déterminer les teneurs en carbone (C), en hydrogène (H), en azote (N) et en soufre (S), d'azote (N) et de soufre (S). La teneur en oxygène (O) a été déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$\textbf{\% O =100 - (\% C + \% H + \% N + \% S)} \tag{I.8}$$

I.2.9 Analyse statistique

Les analyses statistiques des résultats ont été traitées par le logiciel « IBM SPSS statistical version 27, University of New Haven ; West Haven, CT, USA ». La comparaison entre les différents paramètres mesurés a été effectuée par le test ANOVA à un facteur suivi d'une comparaison multiple de Tukey avec $p < 0.05$. L'analyse en composantes principales (ACP) et la corrélation ont été déterminées entre les variables étudiées.

I.3 Résultats et discussion

I.3.1 Informations générales des enquêtés

Le **Tableau I.1** ci-dessous représente les informations générales des enquêtés. Les unités que nous avons visitées se répartissent principalement entre le secteur privé, qui représente 63 % des cas, et les associations coopératives, qui couvrent 35 % des échantillons. En ce qui concerne la tranche d'âge des dirigeants de ces unités, près de la moitié d'entre eux se situent dans la fourchette d'âge de 45 à 55 ans. En ce qui concerne le genre, plus de deux tiers des dirigeants sont des hommes.

Lorsque l'on considère le niveau d'éducation des dirigeants, nous avons constaté que plus

de 65 % d'entre eux possèdent un niveau d'éducation qui n'excède pas le niveau primaire. En contraste, seulement 22,4 % ont atteint un niveau d'éducation universitaire. De plus, il est intéressant de noter que près d'un tiers des entreprises enquêtées ont été créées au cours de la dernière décennie.

Ces statistiques nous ont fourni des informations concernant les dirigeants des unités incluses dans l'étude. Ces informations sont essentielles pour contextualiser les résultats de l'enquête, car elle permet de mieux comprendre les profils des acteurs impliqués dans la gestion des résidus végétaux solides.

TABLEAU I.1 . Informations générales sur les enquêtés

Variable	**Sous-groupes**	**Pourcentage %**
Age	25-35	3
	35-45	15
	45-55	48
	>55	34
Sexe	Mâle	72
	Femelle	28
Niveau scolaire	Néant	27
	Primaire	38
	Collège	6
	Secondaire	5
	Universitaire	22
Statut des unités productrices	Prive	63
	Public	2
	Économie sociale	35
Année de création	Avant 2000	29
	2000-2010	34
	Après 2000	35

I.3.2 Types de résidus végétaux solides

Le **Tableau I.2** présente les résultats concernant les types de résidus végétaux solides produits par les divers organismes producteurs. Parmi l'ensemble des sous-produits rejetés, les

sous-produits solides constituent la majeure partie, représentant 68,4 % du total. Parmi ces sous-produits solides, on retrouve une diversité de composants, tels que des tiges, des racines, des graines et des feuilles.

D'après les données collectées, les huileries d'olive génèrent des quantités substantielles de grignons d'olive, avec une moyenne annuelle d'environ 2854,84 tonnes. Les industries du bois produisent quant à elles environ 13,59 tonnes par an, principalement sous forme de sciure de bois.

Ces chiffres mettent en lumière la variété des sous-produits végétaux solides générés par les différentes entités enquêtées. Ils mettent en évidence les sources importantes de résidus, notamment les huileries d'olive et les industries du bois, ce qui est crucial pour orienter les efforts de gestion et de valorisation des sous-produits végétaux.

TABLEAU I.2 . Types des sous-produits végétaux solides générés par les unités de production

Organisme producteur	**Effectif**	**Fraction utilisée**	**sous-produits végétaux solides**	**quantité des sous-produits(Moyenne en Tonnes/an)**
Industries de bois	39	Bois	Sciures de bois, Copeaux de rabotage	13.59
Coopératives des plantes médicinales et aromatiques	21	Feuilles, Mélange de biomasse	Tiges, racines, graines	-
Huileries d'olive	31	Graines et fruits	Graines et fruits	2854.84
Délégation des eaux et forêts de la région Fès-Meknès	1	-	Feuilles, branches, cônes, graines, sciures de bois	-
Conseil régional Fès Meknès	1	-	Déchets des fruits et légumes ménagers	-

I.3.3 État de traitement de sous-produits végétaux

la **Figure I.5** présente Les résultats concernant l'état du traitement des résidus végétaux. Parmi les enquêtés, 62,24 % considèrent que le traitement des sous-produits n'a pas d'importance pour eux, tandis que 37,76 % le jugent économiquement important. Toutefois, la majo-

rité des enquêtés ne semblent pas reconnaître l'importance environnementale du traitement des sous-produits.

Il ressort des données que 58,16 % des organismes interrogés ne disposent pas d'une aire de décharge pour les sous-produits. De plus, une proportion significative de 98 % des sous-produits produits par ces unités ne font pas l'objet d'un traitement. Cette situation conduit souvent à la vente des résidus sous leur forme brute à d'autres acteurs, tels que les acheteurs de grignons d'olive et de sciures de bois, ou à leur utilisation traditionnelle, comme c'est le cas pour les sous-produits de plantes médicinales et aromatiques. Dans certains cas, les sous-produits restent inexploités, notamment dans le cas des résidus forestiers.

Les initiatives visant à exploiter ces sous-produits sont souvent limitées, se résumant à quelques projets. Par exemple, à Fès, la décharge contrôlée des déchets génère de la chaleur par la combustion des déchets ménagers. De même, les Stations d'épuration des Eaux Usées (STEP) de Fès traitent la biomasse organique par fermentation pour produire du biogaz.

Cependant, malgré ces initiatives locales, l'exploitation de la biomasse reste marginale par rapport à son potentiel réel. Des efforts plus importants sont nécessaires pour encourager une utilisation plus efficace et extensive des déchets végétaux solides. Cela pourrait impliquer la mise en place de politiques incitatives, le développement de technologies appropriées et la sensibilisation des acteurs concernés aux avantages économiques et environnementaux de la valorisation énergétique de la biomasse.

La stratégie énergétique adoptée, centrée principalement sur les énergies renouvelables (EnR) depuis 2009, a abouti à l'accumulation d'une part significative, soit 34,6 % de la capacité électrique totale du pays. Le Maroc vise à augmenter cette part à plus de 52 % d'ici 2030, conformément aux objectifs fixés dans la politique énergétique (Ministère de la transition énergitique et du développement durable, 2021). Cependant, malgré ces avancées, la biomasse n'a pas encore été pleinement intégrée à cette démarche, qui s'est surtout concentrée sur d'autres sources d'énergie renouvelable.

Ces constatations mettent en lumière un besoin d'améliorer les pratiques de gestion des sous-produits végétaux. Les chiffres révèlent une sous-estimation de l'importance du traitement des sous-produits, à la fois sur les plans économique et environnemental. Ils suggèrent également que des efforts sont nécessaires pour développer des méthodes plus efficaces de traitement et de valorisation des sous-produits, afin de minimiser leur impact négatif sur l'environnement

et d'exploiter leur potentiel économique.

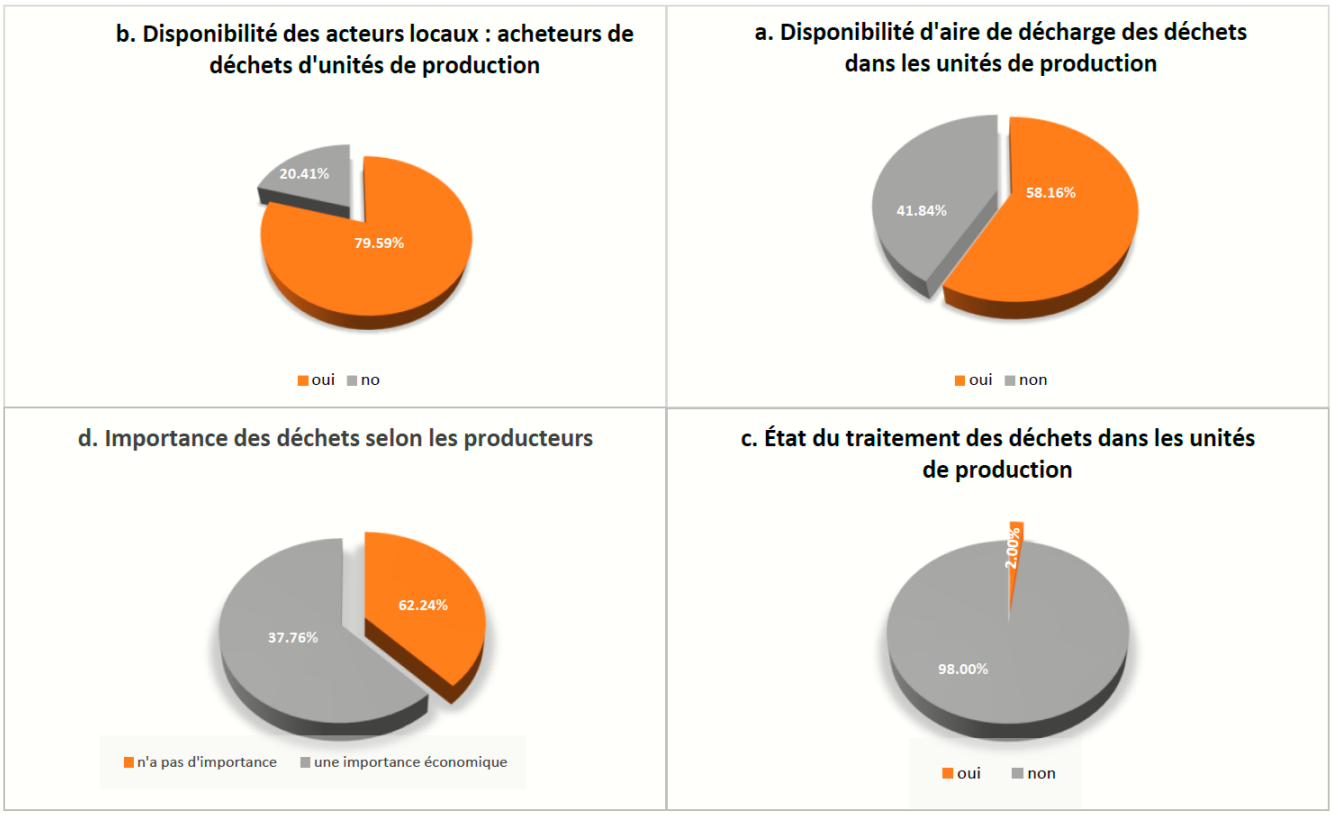


FIGURE I.5 . Etat du traitement des sous-produits verts et son importance

I.3.4 Obstacles de traitement des sous-produits végétaux

L'économie circulaire émerge comme un modèle économique novateur adopté récemment en remplacement du modèle économique linéaire traditionnel. Ce modèle circulaire est basé sur le développement durable et vise à répondre aux défis de l'épuisement des ressources naturelles en favorisant la réutilisation, le recyclage et la régénération des produits et des matériaux. Cependant, il est regrettable de constater que 81,5 % des enquêtés ne semblent pas avoir une compréhension claire de ce concept de l'économie circulaire. Ce manque de compréhension peut être attribué en partie au niveau d'éducation des gestionnaires des unités, dont 35,2 % n'ont qu'un niveau d'éducation primaire, 25 % ne possèdent aucun niveau d'éducation et seulement 20,4 % ont atteint un niveau d'éducation supérieur.

Il est intéressant de noter que les acteurs des divers secteurs d'activité considèrent le manque de moyens et les faibles bénéfices comme les principaux obstacles et facteurs limitants en ce qui concerne le traitement des sous-produits. Ces résultats mettent en évidence la nécessité de sensibiliser davantage aux avantages de l'économie circulaire et d'explorer des stratégies

innovantes pour surmonter les contraintes économiques et opérationnelles.

Dans l'ensemble, ces résultats soulignent l'importance de l'éducation et de la sensibilisation pour promouvoir la transition vers l'économie circulaire dans la gestion des sous-produits végétaux. Ils suggèrent également que des investissements et des incitations économiques pourraient jouer un rôle crucial dans le renforcement de cette transition au sein de la région de Fès-Meknès.

Afin de remédier à cette situation, le Maroc a élaboré un plan d'action visant à exploiter de manière plus efficace la biomasse pour produire de l'énergie. L'objectif est de générer entre 17 et 25 TWh/an d'énergie d'ici 2030 en valorisant la biomasse. Cette initiative reflète la volonté du pays de diversifier ses sources d'énergie renouvelable et de maximiser l'utilisation de ses ressources disponibles pour répondre à la demande croissante en énergie de manière durable. Ce plan basé sur trois axes (Ministère de la transition énergitique et du développement durable, 2021).

- Mise en place d'un cadre législatif favorable à la valorisation énergétique de la biomasse
- Transformation durable des déchets organiques en ressources pour la création d'une valeur régionale ajoutée.
- Garantir les ressources et moyens pour un développement durable et innovant de la valorisation de la biomasse.

I.3.5 Teneurs en fibres

Les résultats d'analyse des teneurs en cellulose, hémicellulose et la lignine sont représentés dans le **Tableau I.3** :

TABLEAU I.3 . Teneur en fibres des divers types de sous-produits végétaux étudiés.

Types de sous-produits	% Teneur en fibres			
	Ce	He	Li	Fraction soluble
DF	$34{,}75 \pm 1{,}20^{a}$	$28{,}44 \pm 1{,}50^{a}$	$17{,}63 \pm 1{,}30^{a}$	$19{,}19 \pm 0{,}50^{a}$
DPAMn	$54{,}19 \pm 0{,}50^{b}$	$28{,}50 \pm 0{,}60^{a}$	$16{,}81 \pm 0{,}40^{a}$	$8{,}50 \pm 0{,}25^{b}$
DPAMe	$48{,}44 \pm 0{,}60^{c}$	$27{,}19 \pm 0{,}70^{c}$	$16{,}63 \pm 1{,}50^{a}$	$7{,}75 \pm 0{,}80^{c}$
DG	$34{,}00 \pm 0{,}50^{a}$	$17{,}13 \pm 0{,}60^{b}$	$16{,}20 \pm 1{,}70^{a}$	$32{,}00 \pm 1{,}10^{d}$
DO	$27{,}81 \pm 1{,}50^{d}$	$24{,}69 \pm 1{,}20^{c}$	$16{,}44 \pm 0{,}50^{a}$	$31{,}06 \pm 0{,}50^{d}$
DM	$7{,}35 \pm 0{,}70^{e}$	$4{,}29 \pm 0{,}25^{d}$	$2{,}35 \pm 0{,}40^{b}$	$86{,}00 \pm 1{,}50^{e}$

a, b, c, d, et e — valeurs avec une différence significative ($p < 0{,}05$).
les données dans le Tableau représente la moyenne$\pm$ l'écart type de trois répétitions..

D'après ces résultats, la cellulose (Ce) est le composant le plus important de tous les échantillons étudiés, et représente des teneurs élevées respectivement 34%, 48% et 54% de la masse sèche dans les DF, les DG , et les DPAMe .

La teneur en hémicellulose (He) est aussi importante, mais moins répondue par rapport à la Ce avec un taux moyen de 17%, 24%, 27%, et 28%, respectivement dans les sous-produits DG, DO, DPAMe, DF et DPAMn .

Cependant la lignine (Li) ne représente qu'environ 16% de matière sèche dans la majorité des échantillons étudiés, sauf en DM , où son ratio est très faible (2,35%).

L'analyse de la variance (test ANOVA) pour les teneurs en Ce, en He, et en Li des sous-produits végétaux solides sont significativement différentes ($p < 0{,}05$) pour chaque paramètre mesuré (**Tableau I.3**). La comparaison multiple de Tukey qui a été réalisée entre les moyennes pour chaque paramètre mesuré (Ce, He, Li,) a montré que :

- Les sous-ensembles : « DM », « DO », « DF, DG », « DPAMe », « DPAMn » ont des teneurs significativement différentes en Ce.
- Les sous-ensembles : « DM », « DO, DF, DG, DPAMe, DPAMn » contiennent des teneurs significativement différentes en Li.
- Chacune des biomasses DG, DO et DM leurs teneurs en hémicellulose sont significativement différentes, tandis que les biomasses DF, DPAMn et DPAMe ne présentent pas une différence significative entre eux.

- Le taux de la fraction soluble est significativement différent pour tous les échantillons étudiés sauf entre DG et DO qui n'existe pas une différence significative.

Ces résultats d'analyses chimiques ont révélé des constatations significatives concernant les résidus forestiers (**DF**), ainsi que les sous-produits issus des parties extraites (**DPAMe**) et non utilisées (**DPAMn**) des plantes médicinales et aromatiques. En effet, ces échantillons se caractérisent par des teneurs élevées de cellulose, avec des valeurs respectives de 34,75 %, 48,44 % et 54,19 %, ainsi que d'hémicellulose, avec des taux de 28,44 %, 27,19 % et 28,50 %. Parallèlement, les quantités de lignine demeurent modestes, atteignant respectivement 17,63 %, 16,63 % et 17,81 %.

Ces résultats se trouvent en corrélation avec des études antérieures portant sur des échantillons isolés, tels que les résidus forestiers d'*Eucalyptus globulus* et de *Pinus pinaster*, ainsi que des parties spécifiques de plantes comme l'écorce de *Pinus pinaster* et *Quercus suber L.* Dans ces études, les taux de cellulose se situaient entre 24 % et 47,7 %, les teneurs en hémicellulose variaient de 15 % à 20,59 %, et les pourcentages de lignine s'étalaient de 13 % à 33,2 % (Romaní et *al.*, 2020).

D'autres travaux portant sur des résidus de plantes comme *Rosmarinus officinalis* et *Mentha arvensis* ont également révélé des résultats comparables, avec des teneurs en cellulose de 48,4 % à 58,2 %, en hémicellulose de 33,2 % à 28,2 %, et en lignine de 17 % à 17,6 % (Eloutassi et *al.*, 2014b; Prakash et *al.*, 2018).

L'approche de travailler donc sur un mélange de sous-produits végétaux (tiges, feuilles, racines, etc.) possédant des caractéristiques similaires et ayant des teneurs élevées de Ce et He présente l'avantage d'économiser les coûts et la durée associés au tri, tout en fournissant une matière première abondante.

I.3.6 Teneurs en sucres et en composés phénoliques

La **Figure I.6** présente une comparaison entre les teneurs en sucres et en composés phénoliques totaux dans les différents types des biomasses étudiées :

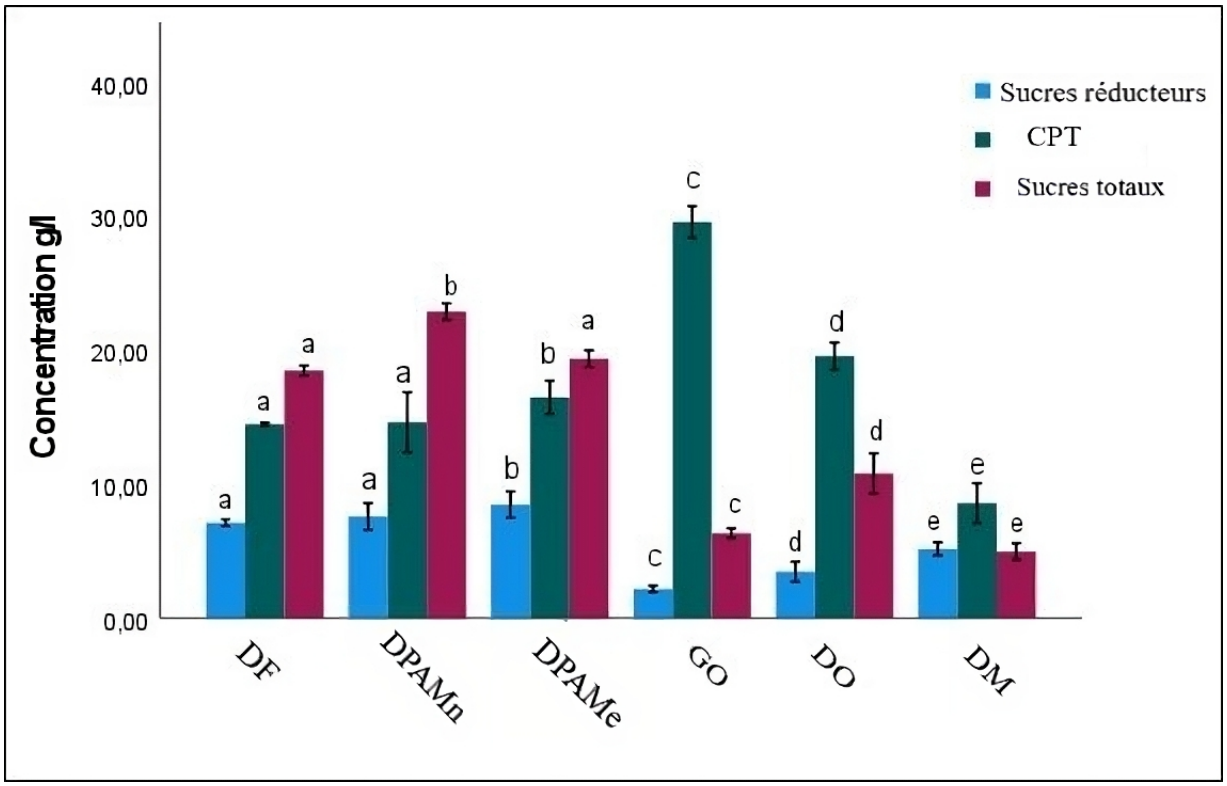


FIGURE I.6 . Composition des sous-produits lignocellulosiques étudiés en sucres et composés phénoliques. a, b, c, d et e : valeurs présentant une différence significative ($p < 0,05$).

A partir de ces résultats, nous avons constaté que :

- Les sous-produits DPAMn, DPAMe et DF contiennent une concentration élevée de sucres et une teneur faible en composés Phénoliques dont leurs concentrations en sucres totaux sont respectivement 22,85, 19,34 et 18,45 g/l et en composés phénoliques 14,59, 16,45 et 14,45 g/l.
- Les sous-produits DG et DO sont riches en composés phénolique et contiennent moins de de sucres.

Les composés phénoliques, en général, peuvent influencer l'hydrolyse des polysaccharides en sucres simples fermentescibles. L'analyse de corrélation a démontré des corrélations négatives entre les composés phénoliques et les sucres totaux, ainsi qu'avec les sucres réducteurs (Stamogiannou et *al.*, 2021).

En conséquence, les biomasses présentant une faible concentration en composés phénoliques et une richesse en sucres offrent une opportunité de valorisation énergétique à moindre coût, sans nécessiter de traitement supplémentaire. Ces découvertes ont des implications importantes pour l'exploitation efficace de ces matières premières dans la production d'énergie et de

biomatériaux.

I.3.7 Compositions élémentaires et proximales

La caractérisation des différents types de sous-produits lignocellulosiques étudiés, y compris l'analyse de la composition élémentaire et proximales et ainsi la valeur calorique sont présentés dans le **Tableau I.4** :

TABLEAU I.4 . Compositions élémentaires et proximales et valeur calorique des divers types sous-produits végétaux étudiés.

	% Type de déchet					
	DF	**DPAMn**	**DPAMe**	**GO**	**DO**	**DM**
Humidité (H %)	11.7	8.2	7.6	5.8	3.4	3.5
Matière volatile (MV %)	71	78.4	63.2	74	76.1	70.5
Cendres (%)	15.5	9.6	24	16.5	18.2	15.4
Carbone fixé (CF %)	1.5	2.7	5.1	4.5	2.2	10.4
C (%)	51	46.9	39.2	54	48.3	46.5
O (%)	40.6	42.8	54.2	35.3	48.3	46.5
H (%)	7.5	6.7	5.3	7.6	5.9	6.8
S (%)	0	0.3	0.09	0.08	0.1	0.4
N (%)	0.2	1.8	1.1	2.3	0.7	3.7
Valeur calorique (VC %)	19	19.8	14.5	21.6	18.5	12.5

A partir de ces résultats, on a constaté que :

- les DF ont une teneur d'humidité relativement élevé de l'ordre de 11,7 % par rapport aux autres échantillons étudiés qui ne dépassent pas un taux 8,2 %.
- La teneur en cendres est très faible dans les DF avec un taux de 1,5% et élevée dans les DM (10.4%).Le pourcentage de matières volatiles varie entre 63,2 et 76,1%.
- Concernant la composition élémentaire, les DF et GO ont une teneur élevée en carbone (51 et 54 % respectivement) et en hydrogène (7,5 et 7,6 % respectivement) par rapport aux autres résidus de biomasse. Presque tous les sous-produits de biomasse ont une faible teneur en azote et une quantité négligeable de soufre, à l'exception de DM, qui contient 3,7 % d'azote et 0,4 % de soufre.

- ✜ Ces résultats ont montré aussi que la valeur calorique de la plupart des sous-produits étudiés DF, DPAMn, GO, et DO, varie entre 18,5 et 21,6 MJ/kg, tandis que les DM représentent un contenu énergétique relativement faible.

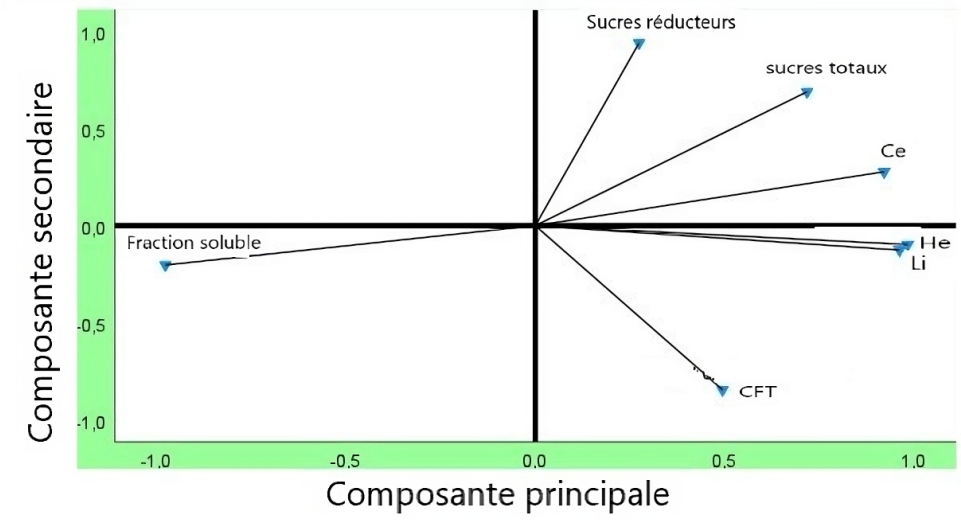
I.3.8 Analyse statistique : Corrélation entre les différents paramètres mesurés

Les coefficients de corrélation de Pearson entre les différents paramètres étudiés ont révélé, d'une part une corrélation positive entre plusieurs paramètres (**Tableau I.5**), notamment entre

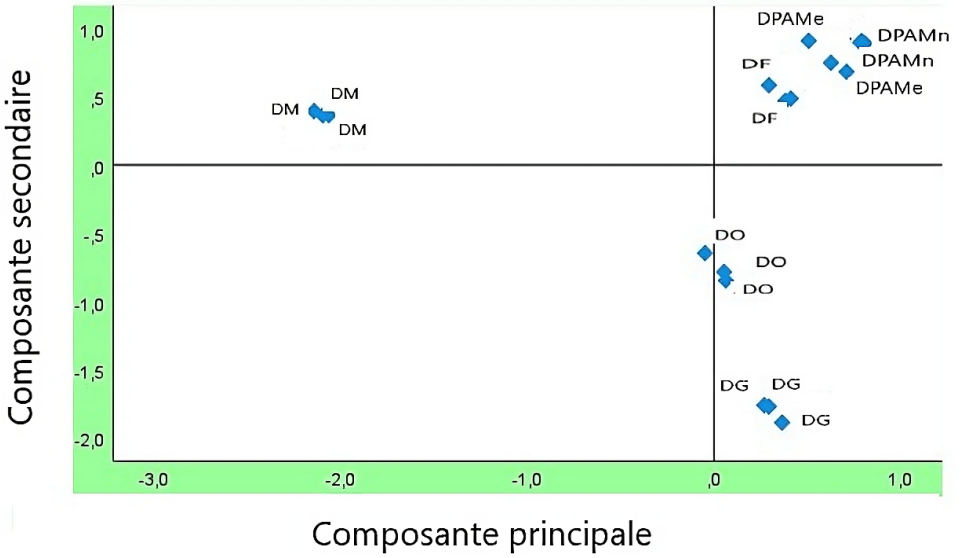
TABLEAU I.5 . Matrice de corrélation entre les différentes composantes de la BLC analysées.

	Ce	**He**	**Li**	**Fraction soluble**	**CFT**	**Sucres réducteurs**	**Sucres totaux**
Ce	1,000	0,846	0,792	-0,964	0,258	0,516	0,844
He		1,000	0,978	-0,937	0,551	0,175	0,643
Li			1,000	-0,907	0,546	0,137	0,611
Fraction soluble				1,000	-0,311	-0,451	-0,842
CFT					1,000	-0,623	-0,242
Sucres réducteurs						1,000	0,823
Sucres totaux							1,000

Ce-He (**r = 0.846**), Ce-Li (**r = 0,792**) et He-Li (**r = 0,978**) et Ce- Sucres totaux (**r = 0.844**). D'autre part, la fraction soluble est fortement corrélée négativement avec sucres totaux, Li, He et Ce (respectivement **r = -0.842, r = -0.907, r =-0.937 et r =-0.964**) et aussi les composés avec les sucres réducteurs (**r=-0.623**). L'analyse en composantes principales (ACP) obtenue, montre que les valeurs des 2 premières composantes principales représentent 96,2 % de l'information de l'ensemble des variables étudiées. D'après La projection du cercle des corrélations (**Figure I.7a**) et la représentation de la distribution des biomasses (**Figure I.7b**), on a constaté qu'il y a une contribution positive des Ce, He et Li sur le premier axe principal en corrélation positive avec DF, DPAMn et DPAMn. Cependant, les sucres réducteurs et les polyphénols totaux ont contribué sur le deuxième axe principal en corrélation avec DO et DG.



(a)



(b)

FIGURE I.7 . Analyse en composantes principales (ACP)(**a**) Représentation de la distribution des différents types de résidus lignocellulosiques (**b**).

I.4 Conclusion

Selon la revue de littérature ainsi que les résultats obtenus à partir de l'enquête menée, il est évident que les sous-produits végétaux solides générés par divers secteurs d'activité présentent une grande diversité et une quantité considérable. Malgré leur potentiel en tant que ressources riches en biomasse lignocellulosique, ces sous-produits demeurent sous-exploités et, dans la plupart des cas, ne font pas l'objet d'un traitement adéquat.

Les conclusions de cette étude sur le terrain soulignent également que les principaux obstacles à l'investissement dans le secteur de valorisation des sous-produits végétaux pour la pro-

duction de bioénergie (comme le bioéthanol et le biogaz) ou pour la synthèse de biomatériaux sont le manque de moyens pour le traitement des sous-produits rejetés et les revenus faibles selon les acteurs concernés.

De plus, cette étude révèle que de nombreuses industries sont en retard en termes d'innovation et de suivi des avancées dans le domaine de l'économie circulaire. Elles ont également montré peu d'engagement vis-à-vis de la stratégie de développement durable. Cela implique un manque d'implication dans les pratiques qui favorisent la réutilisation des ressources et la réduction de l'impact environnemental, ce qui constitue un défi majeur pour la transition vers un modèle plus durable.

Ces constatations soulignent la nécessité d'une sensibilisation accrue, de politiques incitatives et de ressources adéquates pour promouvoir la valorisation efficace des sous-produits végétaux, ainsi que pour encourager l'adoption de pratiques plus circulaires et durables au sein des industries.

L'analyse de la composition chimique des échantillons de sous-produits végétaux a révélé des résultats prometteurs, notamment pour les mélanges de biomasse issus des résidus forestiers et des sous-produits des plantes médicinales et aromatiques. Ces mélanges se distinguent par leur pertinence en tant que ressources énergétiques potentielles, grâce à leurs niveaux substantiels de cellulose et d'hémicellulose, ainsi qu'à leurs teneurs relativement faibles en lignine et en composés phénoliques par rapport aux autres biomasses étudiées.

La valorisation de la matière lignocellulosique contenue dans ces sous-produits végétaux, en tant que source d'énergie et de biomatériaux, requiert un prétraitement approprié qui prend en compte des aspects tels que le coût, la durée et la méthode d'hydrolyse pour convertir la cellulose et l'hémicellulose en sucres simples fermentescibles. La mise en œuvre de prétraitements efficaces ouvre la voie à l'exploitation durable de ces matières premières et pourrait inciter les parties prenantes à investir dans ce domaine. En effet, une telle initiative pourrait contribuer significativement à l'augmentation de la part des énergies renouvelables, en particulier la biomasse végétale, dans le bouquet énergétique du Maroc ainsi que dans d'autres pays en développement.

L'optimisation de ces processus de valorisation non seulement renforcerait la sécurité énergétique, mais également réduirait l'empreinte environnementale, offrant ainsi une opportunité tangible de transition vers des sources d'énergie plus durables et respectueuses de l'environne-

ment.

CHAPITRE II

PRÉTRAITEMENT DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE

JEE Journal of Ecological Engineering

Journal of Ecological Engineering 2023, 24(4), 376–383
https://doi.org/10.12911/22998993/160094
ISSN 2299–8993, License CC-BY 4.0

Received: 2023.01.07
Accepted: 2023.01.31
Published: 2023.03.01

Simple and Combined Pretreatment of a Mixture of Forestry and Aromatic-Medicinal Plant Waste by Chemical, Physical and Enzymatic Methods

Ahmed Bendaoud[1*], Abdelkhalek Belkhiri[2], Mohamed Maai[3], Tarik Moubchir[3], Anouar Hmamou[1], Sara Tlemcani[4], Noureddine Eloutassi[1], Amal Lahkimi[1]

[1] Laboratory of Engineering, Electrochemistry, Modelization and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, Morocco
[2] Laboratory of Bioactives-Health and Environment, Faculty of Sciences Meknes, Meknes 50000, Morocco
[3] Polyvalent Laboratory in Research and Development, Department of Biology, Poly Disciplinary Faculty, Sultan Moulay Slimane University, Beni-Mellal 23000, Morocco
[4] Laboratory of Environmental Biotechnology, Agri-food, Health Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Faculty of Sciences, Fez, Morocco
* Corresponding author's email: ahmed.bendaoud1@usmba.ac.ma

ABSTRACT

Forestry waste (FW) extracted parts ofmedicinal-aromatic plant waste (EPW) and unused parts (UPW) are considered potential resources for energy recovery (their heating value of approximately 19 MJ/kg).In order to valorize lignocellulosic biomass, a pretreatment process is required to hydrolyze the recalcitrant lignocellulosic complex into fermentable simple sugars. The aim of this study is to determine the best method of pretreatment that takes into account treatment time, efficiency, and environmental friendliness. The mixture of FW, EPW, and UPW was treated by simple and combined treatment using different methods like acid sulfuric (Ac), steam explosion (SE), and enzymatic (E) (cellulase and hemicellulase).The results showed that the combined and simple Ac treatments are the mostefficient compared with SE and E treatments in the hydrolysis of polysaccharide of cellulose with a rate respectively of 90.5% and 77.6% and hemicellulose with a rate respectively of 80.63% and 87.14%. In addition, both of the preceding methods release an important rate of total phenolic compounds. Combined treatment demands high time but is friendly (approximately 1 day), and Ac treatment is less time-consuming (about 25 min) but harmful to the environment and causes the corrosion of equipment.In conclusion, combined treatment can be the best method and the high time required can be reduced with the progress of the research.

Keywords: biomass; lignocellulosic complex; pretreatment; cellulose; plant waste.

INTRODUCTION

In Africa, the demand for energy has increased for the past 10 years, as energy consumption has grown from 15.99 Ej in 2010 to 18.58 Ej in 2019 with a rate of development per annum of 2.5% (Statistical Review of World Energy, 2021). Moreover, the enhancing depletion of fossil fuels and their disadvantages on health and the environment derived from greenhouse gas emissions leads to a search for alternative sourcesof renewable energy like lignocellulosic biomass. This is a potential source to produce second-generation bioethanol and biomethane (Grippi et al., 2020).

Despite the availability of plant biomass and its richness in organic matter, mainly cellulose and hemicellulose (Bendaoud et al., 2022). Their valorization requires a pretreatment step that constitutes more than 40% of the total processing cost of the biomass conversion process (Sindhu et al., 2016). During this pretreatment step to degrade recalcitrant lignocellulosic complex, which, lignin is the major barrier to accessing the polysaccharides; cellulose, and hemicellulose and hydrolyze it into fermentable simple sugars for bioenergy production (Zabed et al., 2019)

Among the most common methods used in the pretreatment of lignocellulosic biomass are

Tropical Journal of Natural Product Research
Official Journal of the Natural Product Research Group
Faculty of Pharmacy, University of Benin 300001, Benin City, Nigeria
Phone: +2348073184488, Email: editor.tjnpr@gmail.com; editor.tjnpr@uniben.edu; Website: www.tjnpr.org

ISSN: 2616-0684 (Print): 2616-0692 (Online). DOI: 10.26538/tjnpr, ISI IF: 0.562 (2017)
Abstracted/Indexed: Index Copernicus ICV (2017): 59.83, Open-J-Gate, EMBASE, EBSCO Host, WorldCat, AIOL, CrossRef (USA), JIF, NCBI (PubMed), CAS

SCOPUS indexed, SCImago SJR 0.16

Laboratory of Engineering, Electrochemistry, Modelization and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, Morocco.

Ref. No.as25421/4092.2
5th August 2024

Dear Dr Ahmed Bendaoud,

Provisional Acceptance letter for Article Manuscript Number TJNPR MH261ARN
Title: *Comparative Analysis of Pretreatment Techniques for Lignocellulosic Biomass Valorization into Bioethanol: A Case Study in the Fes-Meknes Region*
Authors: Ahmed Bendaoud*, Abdelkhalek Belkhiri, Anouar Hmamou, Sara Tlemcani, Fatima Moussaoui, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi
I am pleased to inform you that your manuscript sent to the Tropical Journal of Natural Product Research has been reviewed and recommended for publication as a research article. However, before the issues raised by the Reviewers are forwarded, to enable you correct your manuscript, accordingly, please pay a publication charge of **$ USD280**. The actual publication of the paper will be in the upcoming issue (**Vol 8 issue 8, 2024**). Authors are responsible for all bank charges.
Please, the manuscript number (**TJNPR MH261ARN**) should be included in the bank transfer.

Congratulations.

The money should be remitted in favour of:

Name of account: Abiodun FALODUN
Bank Name: Access Bank Plc
Account Number:1456136521.
Sort Code: 044040699
Swift code: ABNGNGLA
Address of Bank: Ransome Kuti Road, University of Benin, Benin City, Edo State, Nigeria

Sincerely,

Professor A. Falodun, PhD, FAAS
Editor-in-Chief



Editor-in-Chief: Professor Abiodun Falodun, PhD (Nigeria) Fulbright Fellow, USA
Associate Editors: Professor Dr Peter Langer PhD Hannover (Germany)
Professor FO Ekhaise, PhD Bayreuth (Germany)

II.1 Introduction

Les analyses chimiques conduites ont permis d'identifier les résidus lignocellulosiques DF, DPAMn et DPAMe comme des substrats prometteurs en termes d'utilisation énergétique, du fait de leur teneur élevée en cellulose et en hémicellulose, ainsi que de leur relative pauvreté en lignine (comme en détaille chapitre I de la partie pratique). Néanmoins, l'exploitation de ces résidus lignocellulosiques implique un prétraitement préalable avant de pouvoir les soumettre à l'étape de valorisation, à savoir la production de bioéthanol (comme exposé dans le chapitre II de la partie bibliographique).

Parmi les méthodes de prétraitement les plus répandues pour la BLC, on distingue le prétraitement chimique à l'aide de l'acide sulfurique (H_2SO_4) et l'acide chlorhydrique (HCl), le prétraitement physico-chimique basé sur la méthode de l'explosion à vapeur, ainsi que le prétraitement biologique en utilisant des souches ou des enzymes (chapitre II de la partie bibliographique). Afin de sélectionner les méthodes de prétraitement les plus adaptées et performantes, en tenant compte de critères tels que la durée du prétraitement, le rendement de l'hydrolyse et l'impact environnemental limité, ce chapitre s'est consacré à la mise en œuvre de différents types de prétraitements. Ces méthodes ont été appliquées individuellement ou de manière combinée sur un mélange de BLC composé de résidus forestiers et de sous-produits plantes médicinales et aromatiques.

L'objectif principal de ce chapitre consiste donc à évaluer l'efficacité et les avantages des différentes approches de prétraitement sur ce mélange de matières premières lignocellulosique, en vue de déterminer les options les plus favorables pour une valorisation énergétique optimale.

II.2 Matériel et méthodes

La **Figure II.1** présente le schéma global du procédé de prétraitement du substrat étudié. Ce processus de prétraitement est réalisé en appliquant diverses méthodes individuellement ou en combinaison, incluant des approches chimiques, physico-chimiques, et biologiques.

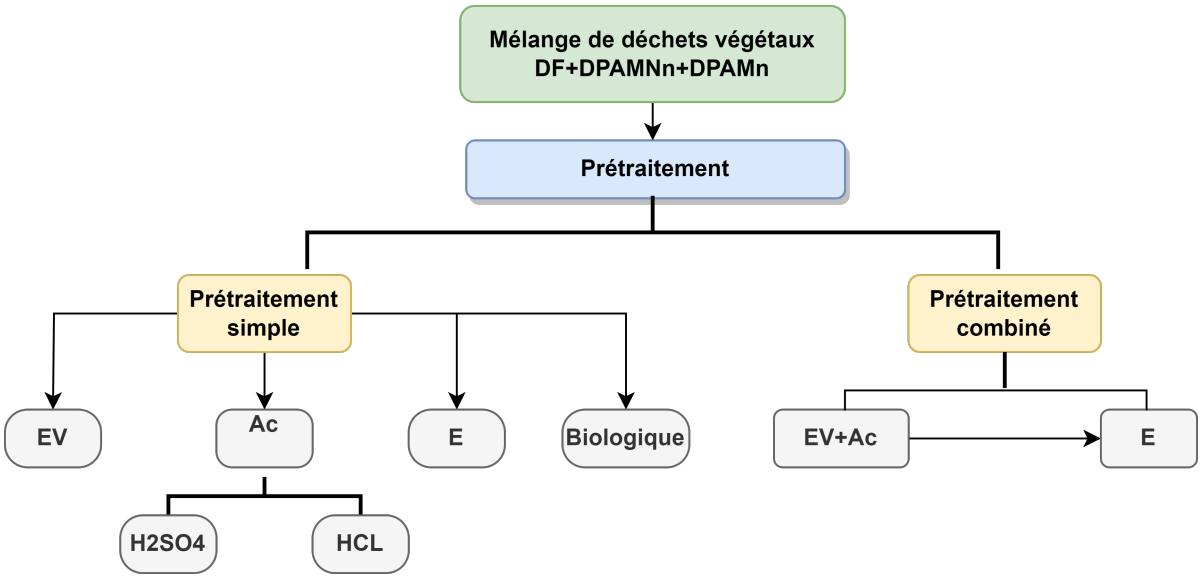


FIGURE II.1 . Processus de prétraitement d'un mélange de sous-produits de BLC par diverses méthodes

II.2.1 Matériel végétal

Les substrats de BLC choisis pour cette étude comprennent les résidus forestiers (DF), les sous-produits issus des parties distillées (DPAMe) et ceux provenant des parties non distillées (DPAMn) de plantes médicinales et aromatiques(Bendaoud et *al*., 2022). Les matières végétales ont été collectées au sein de la forêt d'Ain Chkef, localisée dans la province de Fès (33°59'07.0 "N, 5°01'05.0 "O). Les sous-produits provenant des plantes médicinales et aromatiques ont été rassemblés à partir de diverses coopératives situées dans la région de Fès Meknès.

II.2.2 Préparation du substrat : Séchage, Broyage et tamisage

Les échantillonnes collectés ont été séchés à 55°C pendant 72 heures jusqu'à ce qu'ils atteignent un poids constant. Ensuite ils sont broyés et tamisés en utilisant une colonne de trois tamis : 1 mm, 0,5 mm et 0,25 mm. Dans ce cadre, un kilogramme du mélange est déposé sur le tamis le plus haut. Par la suite, nous avons agité manuellement pendant une durée de 15 minutes (**Figure II.2**). A la fin de cette opération, le poids des matières retenues sur chaque tamis est mesuré par pesée.



FIGURE II.2 . Photographie du substrat préparé composé d'un mélange DF et DPAMn, et DPAMe

II.2.3 Prétraitement acide

II.2.3.1 Prétraitement acide par acide sulfurique

Une solution d'acide sulfurique diluée a été préparée à une concentration de 1% (v/v). Ensuite, la biomasse broyée a été mélangée avec cette solution dans un récipient en verre, garantissant ainsi une immersion complète de la biomasse dans la solution acide. Pour favoriser les réactions de prétraitement, le récipient a été placé dans un four préchauffé à une température de 100 °C pendant une durée de 30 minutes. Après refroidissement, la biomasse prétraitée a été soumise à une étape de filtration visant à séparer les solides de la solution acide résiduelle. Enfin, afin d'éliminer tout résidu d'acide sulfurique, les solides obtenus ont été soigneusement lavés à l'aide d'eau distillée (Eloutassi et *al*., 2014a).

II.2.3.2 Prétraitement acide par acide chlorhydrique

Le prétraitement acide par HCl a été effectuée par le même protocole suivi par ce l'acide sulfurique H_2SO_4.

II.2.4 Prétraitement basique

Des solutions d'hydroxyde de sodium d'une concentration de 1 % ont été préparées et utilisées pour le processus de prétraitement. La biomasse a ensuite été mélangée avec la solution alcaline à l'intérieur d'un réacteur. Les niveaux de pH ont été ajustés à 10, et le mélange a été soumis à une température de 100°C pendant une durée spécifiée de 30 minutes.

II.2.5 Prétraitement physico-chimique : explosion à vapeur

1 kg de mélange de substrat (DF, DPAMn et DPAMe) a été lavé avec de l'eau pure pour éliminer les impuretés et placé dans un flacon Erlenmeyer contenant 3 litres d'eau distillée. Le substrat a été prétraité à la vapeur dans un autoclave (30 minutes à 200 C°), le temps de dépressurisation était 1-2 secondes toutes les 5 minutes (Eloutassi et *al.*, 2014b).

II.2.6 Prétraitement biologique et enzymatique

II.2.6.1 Prétraitement biologique

Les souches utilisées pour le prétraitement biologique : *Aspergillus niger* EF97 et *Trichoderma longibrachiatum* KT693225 (Abdel Wahab et *al.*, 2018) nous ont été fournies par le laboratoire de la microbiologie de l'Institut Agronomique et Vétérinaire de Rabat en 2022. Des souches d'*Aspergillus niger* et *Trichoderma longibacterium* ont été cultivées séparément sur un milieu PDA (Agar Pomme de Terre Dextrose) préparé avec 200g de pommes de terre, 20 g de glucose et 15 g d'agar. Pour la préparation du milieu, les pommes de terre sont bouillies dans de l'eau distillée pendant 15 à 20 minutes, puis le filtrat est recueilli et le volume est complété à 1 litre. Le mélange est stérilisé à 121°C pendant 15 minutes. Par la suite, les boîtes de Pétri sont incubées à 30 °C jusqu'à la sporulation. Ensuite, les boîtes sont lavées avec l'ajout de 10 ml d'eau distillée, et à l'aide d'une anse de platine stérile, la surface de la gélose est légèrement grattée pour mettre en suspension les spores fongiques. La solution obtenue est conservée dans des flacons stériles et stockée à 4 °C jusqu'à son utilisation.

Préalablement à cela, la BLC, composée de d'un mélange de résidus lignocellulosiques (DF, DPAMn, et DPAMe), nettoyée, séchée, et broyée pour obtenir une taille de particules uniforme. Ces résidus ont été pré-imprégnés à l'eau pendant 24 heures avant le prétraitement biologique. La pré-imprégnation à l'eau des résidus lignocellulosiques avant ce prétraitement est essentielle pour préparer la biomasse à une dégradation plus efficace. Elle ramollit la matrice lignocellulosique, facilitant ainsi l'accès des microorganismes et des enzymes aux polymères cibles. Elle permet également d'éliminer les composés solubles, tels que les phénols et les acides organiques, qui peuvent être inhibiteurs.

Le traitement impliquait le mélange de la biomasse prétraitée avec le milieu de culture fongique inoculé, maintenu à 30°C pendant une période de 6 jours. Des échantillons réguliers

ont été prélevés pour des essais et des analyses.

II.2.6.2 Prétraitement enzymatique

L'hydrolyse enzymatique est catalysée par les enzymes : Cellulases extraites d'*Aspergillus niger* et *Trichoderma longibrachiatum*,. La préparation des enzymes a été obtenue à partir du surnageant du milieu de culture des souches cultivées sur le mélange de notre substrats lignocellulosiques comme source de carbone et d'énergie.

II.2.7 Prétraitement combiné

Le substrat a été traité par (Ac) et (EV) pendant 10 minutes dans les mêmes conditions optimales appliquées pour le traitement simple, puis soumis à une hydrolyse enzymatique (cellulases) pendant 3 jours. (**FigureII.1**)

II.2.8 Dosage des fibres, sucres réducteurs et composés phénoliques

Le dosage de fibres , de sucres réducteurs et de composés phénoliques suit les mêmes protocoles expérimentales décrit sur sections du chapitre I de la partie pratique.

II.2.9 Analyse statistique

Le traitement et l'analyse des résultats ont été exécutés par le logiciel « R Studio » (R Studio Team, 2022). La comparaison entre les différentes méthodes de traitement a été effectuée par le test ANOVA à un facteur suivi du test de Tukey avec $p < 0.01$.

II.3 Résultats et discussion

II.3.1 Composition chimique

Les résultats concernant la composition chimique d'un mélange de résidus de BLC, composé de DF, DPAMn et DPAMe sont présentés dans les **Tableaux II.1** et **II.2** :

TABLEAU II.1 . Teneur en fibres d'un mélange de résidus des DF et des PAMs

Concentration (g/l)			
Sucres totaux	**Cellulose (Ce)**	**Hémicellulose (He)**	**Lignine (Li)**
25.21	9.51	5.68	4.75

TABLEAU II.2 . Teneur en sucres et en composés phénoliques d'un mélange de résidus des DF et des PAMs

Concentration (g/l)				
Glucose	**Xylose**	**Mannose**	**Galactose**	**Composés phénoliques totaux (CPT)**
5.75	3.35	1.61	0.69	2.05

Les résultats obtenus ont révélé que le mélange des sous-produits lignocellulosiques étudiés est principalement constitué d'une quantité significative de polysaccharides, principalement de cellulose, et que le glucose est le sucre simple prédominant en termes d'abondance.

II.3.2 Dosage des polysaccharides et des sucres simples

Avant d'analyser les résultats d'hydrolyse de notre substrat par les différentes méthodes de prétraitement, nous avons préalablement optimisé la taille des particules pour obtenir un rendement optimal. La **Figure II.3** ci-dessous représente le résultat de cette optimisation :

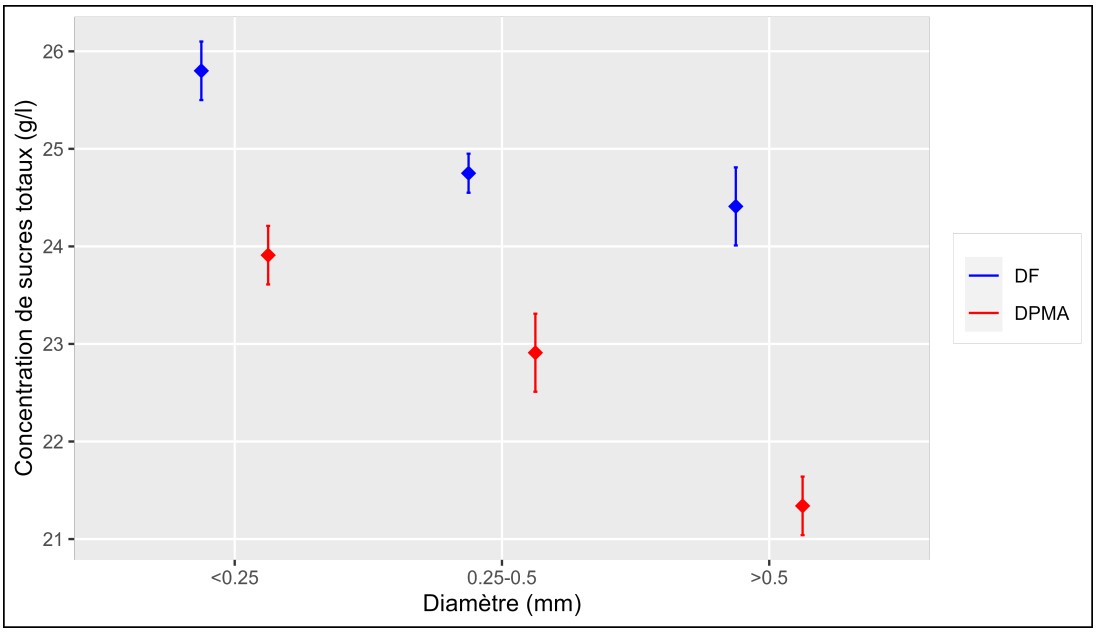


FIGURE II.3 . Prétraitement mécanique d'un mélange de sous-produits lignocellulosiques (DF, DPAMn et DPAMe)

Les résultats de l'optimisation de la taille des particules à traiter en vue d'obtenir un rendement optimal d'hydrolyse du complexe lignocellulosique ont révélé une diminution de la concentration des sucres totaux à mesure que la taille des particules augmente. Cela suggère que les constituants sont plus facilement accessibles et solubles à partir de particules de taille plus petite.

Dans l'ensemble, il y a une corrélation entre la taille des particules et le taux de sucres totaux . Les particules plus petites semblent favoriser une meilleure libération et solubilisation des composants.

II.3.2.1 Prétraitement acide

Afin d'optimiser l'hydrolyse acide par H2SO4, nous avons effectué une optimisation de la concentration d'acide à utiliser pour le prétraitement de notre substrat lignocellulosique. Pour ce faire, nous avons testé différentes concentrations : 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 5 %. Nous avons mesuré la concentration de sucres (cellulose et glucose) après un prétraitement de 25 minutes de la matière lignocellulosique (DF+DPAM) broyée à une taille inférieure à 0,25. Les résultats obtenus sont représentés dans la **Figure II.4** suivante :

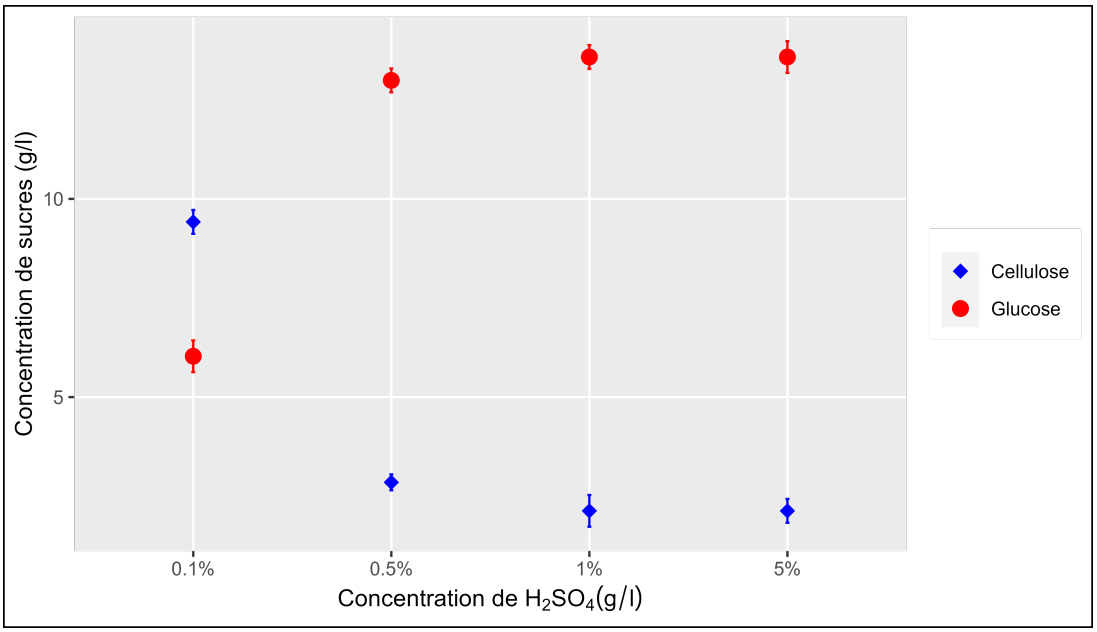


FIGURE II.4 . Optimisation de l'Hydrolyse Acide de BLC (DF+DPAM) par H_2SO_4 à différentes concentrations.

A mesure que la concentration d'acide sulfurique augmente, la concentration de cellulose diminue. L'hydrolyse optimale de la cellulose est observée aux concentrations plus élevées d'acide sulfurique, notamment à 0,5 % et 1 %. La concentration de glucose, produit de l'hydrolyse de la cellulose, augmente significativement avec l'accroissement de la concentration d'acide sulfurique. Les concentrations de glucose augmentent particulièrement aux concentrations plus élevées d'acide sulfurique (0,5 % et 1 %).

En résumé, l'augmentation de la concentration d'acide sulfurique entraîne généralement une diminution des concentrations de cellulose, tandis que la concentration de glucose augmente. Ceci suggère que la concentration optimale d'acide sulfurique pour un prétraitement acide efficace est de 1 %.

❑ **Prétraitement acide par H_2SO_4 :**

les résultats obtenus du traitement acide par H_2SO_4 sont représentés à la **Figure II.5**. Le traitement chimique simple par Ac H_2SO_4 (**Figure II.5**) a permis d'hydrolyser les polysaccharides rapidement au bout de 10 min avec un taux presque de 88% et après 20 min de traitement les polysaccharides sont dégradés presque totalement. Ces résultats ont montré aussi qu' il y a une libération importante des monosaccharides essentiellement le glucose et la xylose qui atteint successivement un maximum de concentration 15g/l et 10 g/l après 20 min du temps de traitement. Globalement, les données reflètent

des processus de dégradation et de transformation des composants de la biomasse végétale au fil du temps. La diminution de la concentration des polysaccharides suggère des processus de décomposition et d'hydrolyse. Les variations observées dans la concentration des sucres simples pourraient indiquer des réactions liées à la dégradation des polysaccharides.

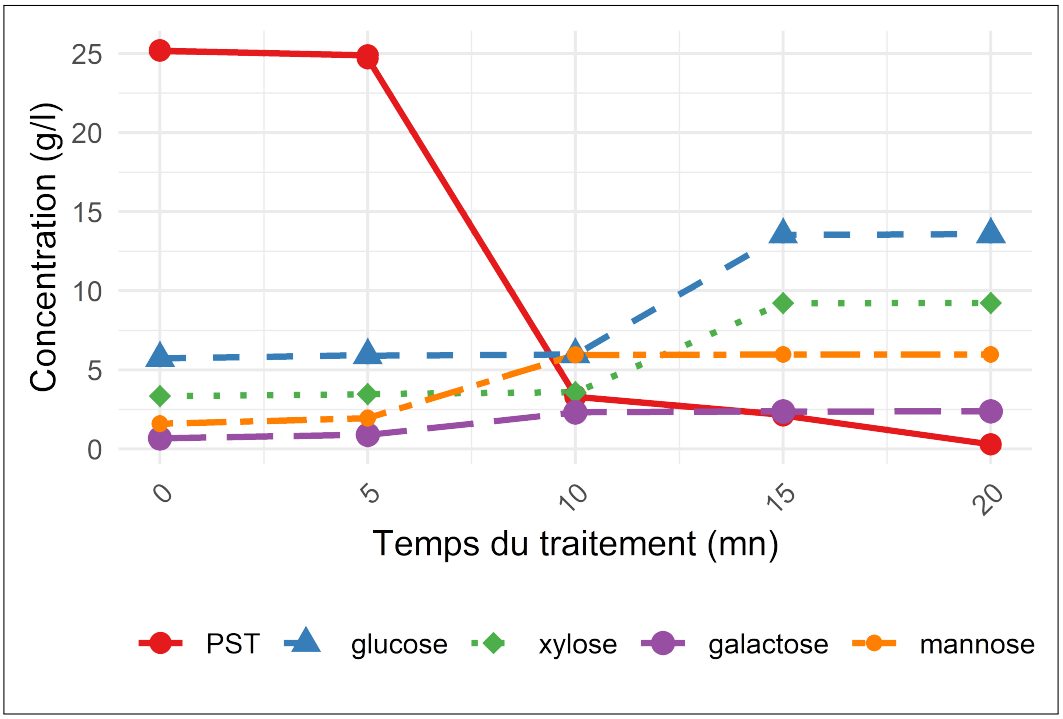


FIGURE II.5 . Prétraitement acide par H_2SO_4 (Ac) des sous-produits lignocellulosiques

❑ **Prétraitement acide par HCl :**

les résultats obtenus du traitement acide par HCl sont représentés à la **Figure II.6**. La concentration de polysaccharides PST a diminué rapidement au fil du temps, atteignant une valeur très faible vers 20 minutes d'hydrolyse. Cependant, Les concentrations de "Glucose" et "Xylose" augmentent au fil du temps, avec une augmentation plus marquée pour "Glucose." La concentration de "Glucose" dépasse celle de "Xylose" après environ 15 minutes d'hydrolyse et se stabilise à une concentration presque 13 g/L.

en comparaison avec le prétraitement acide par H_2SO_4, le rendement d'hydrolyse après 20 min du traitement acide par HCl, semble similaire.

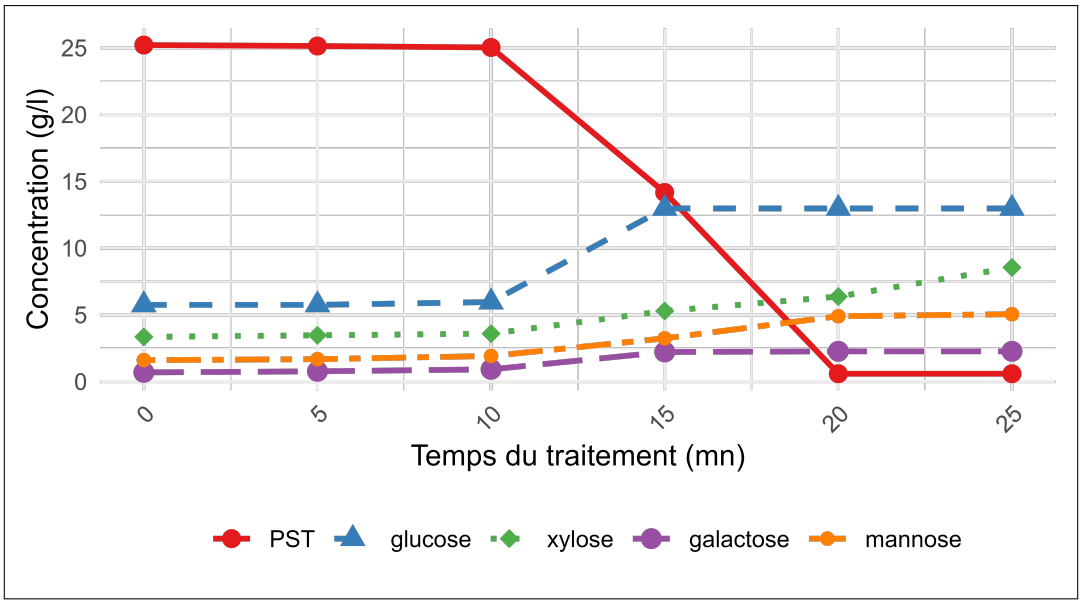


FIGURE II.6 . Prétraitement acide par HCl d'un mélange de sous-produits lignocellulosiques (DF, DPAMn et DPAMe)

II.3.2.2 Prétraitement alcalin

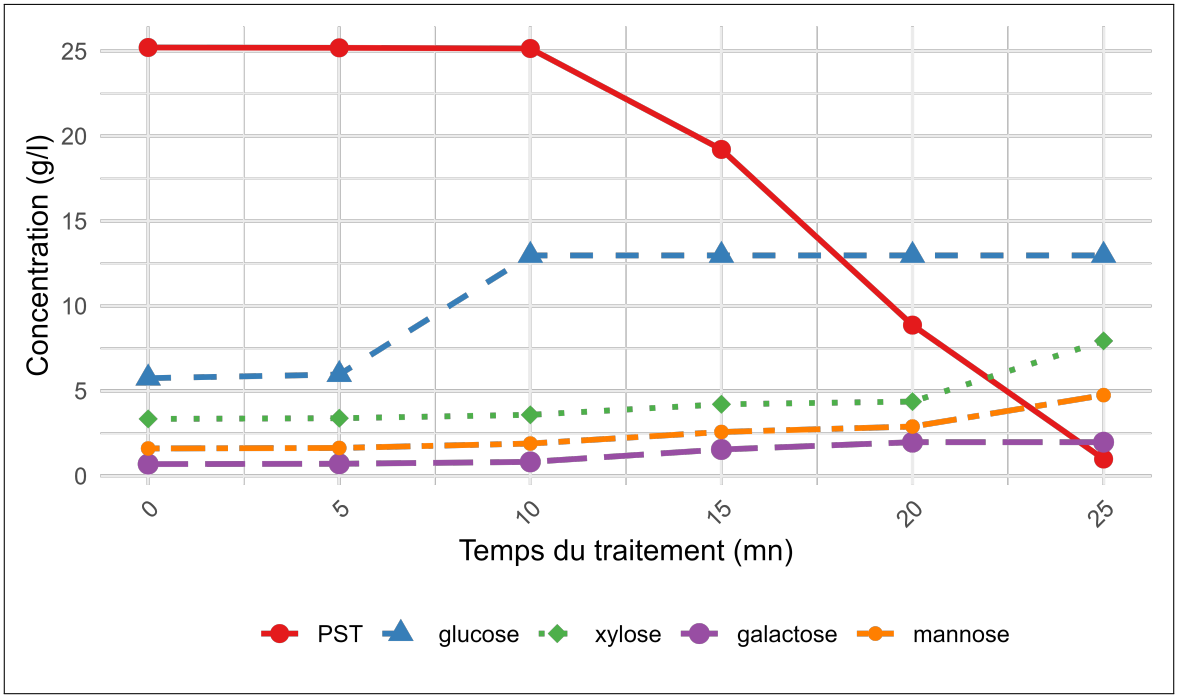


FIGURE II.7 . Hydrolyse alcaline de BLC (DF+DPAM)

La concentration de polysaccharides PST a présenté une diminution au cours du temps d'hydrolyse, atteignant un optimum d'environ 100 % à 20 % après 25 minutes d'hydrolyse.

En revanche, les concentrations des monosaccharides 'Glucose' et 'Xylose' ont manifesté des tendances de croissance, augmentant respectivement de 5,75 à 10,99 g/l (soit une augmentation de 100 % à 190,95 %) et de 3,39 à 7,94 g/l (soit une augmentation de 100 % à 234,28 %).

Les résultats obtenus ont également révélé des taux d'hydrolyse significatifs, bien que ceux-ci semblent être moins efficaces en comparaison avec les traitements acides.

II.3.2.3 Prétraitement par explosion à vapeur

Le traitement des substrats par explosion à vapeur (**Figure II.8**) a donné des résultats moins importants par rapport au prétraitement acide en termes du temps et du rendement car il demande un temps plus long pour obtenir des résultats pareils à ceux de l'hydrolyse acide. Le rendement de cette méthode est relativement faible concernant la libération des sucres simples qui ne dépassent pas une concentration de presque de 10g/l pour le glucose et4g/l pour la xylose, alors que pour les autres monosaccharides sont presque nulle.

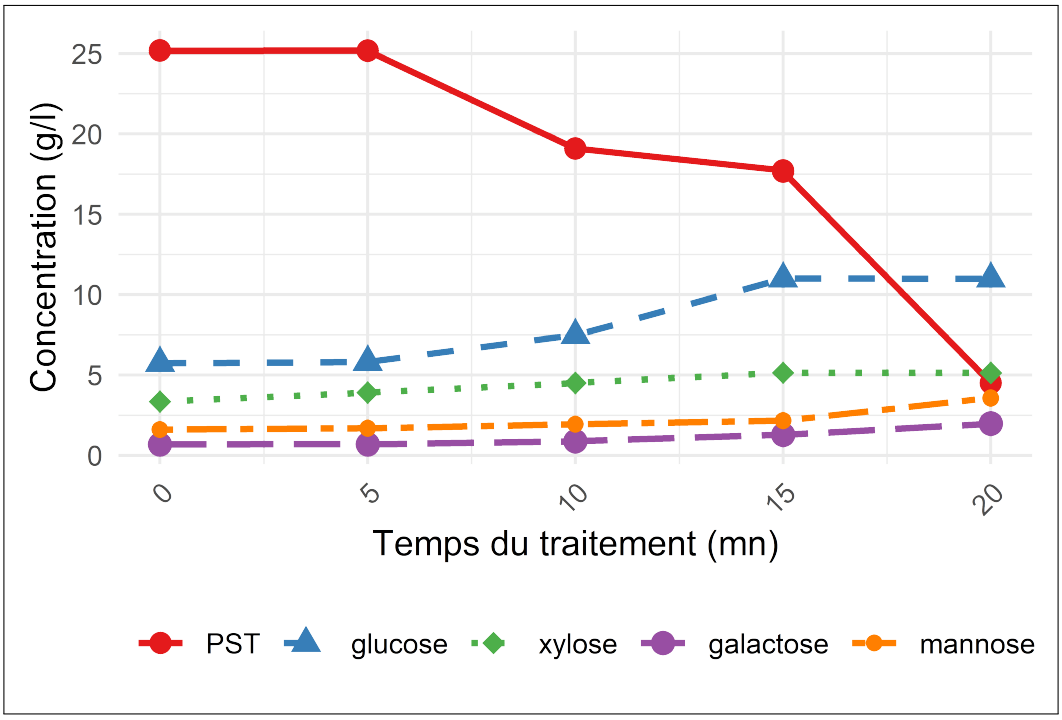


FIGURE II.8 . Traitement par explosion à vapeur (EV) des sous-produits lignocellulosiques

II.3.2.4 Prétraitement Biologique

❑ **Prétraitement enzymatique :**

Il semble que le traitement enzymatique E soit une méthode efficace pour l'hydrolyse des polysaccharides en sucres simples, comme le montrent les résultats illustrés dans la **Figure II.9**. Cependant, il est important de noter que cette efficacité s'accompagne d'un inconvénient majeur : la durée du processus. En effet, d'après les données, le traitement enzymatique prend presque deux jours et demi pour dégrader la quasi-totalité des polysaccharides présents. bien que le traitement enzymatique soit efficace pour l'hydrolyse des polysaccharides en sucres simples, sa durée prolongée de presque deux jours et demi soulève des préoccupations quant à son applicabilité industrielle. une optimisation des conditions expérimentales pourraient être nécessaires pour résoudre ce problème et rendre cette méthode plus efficace et pratique.

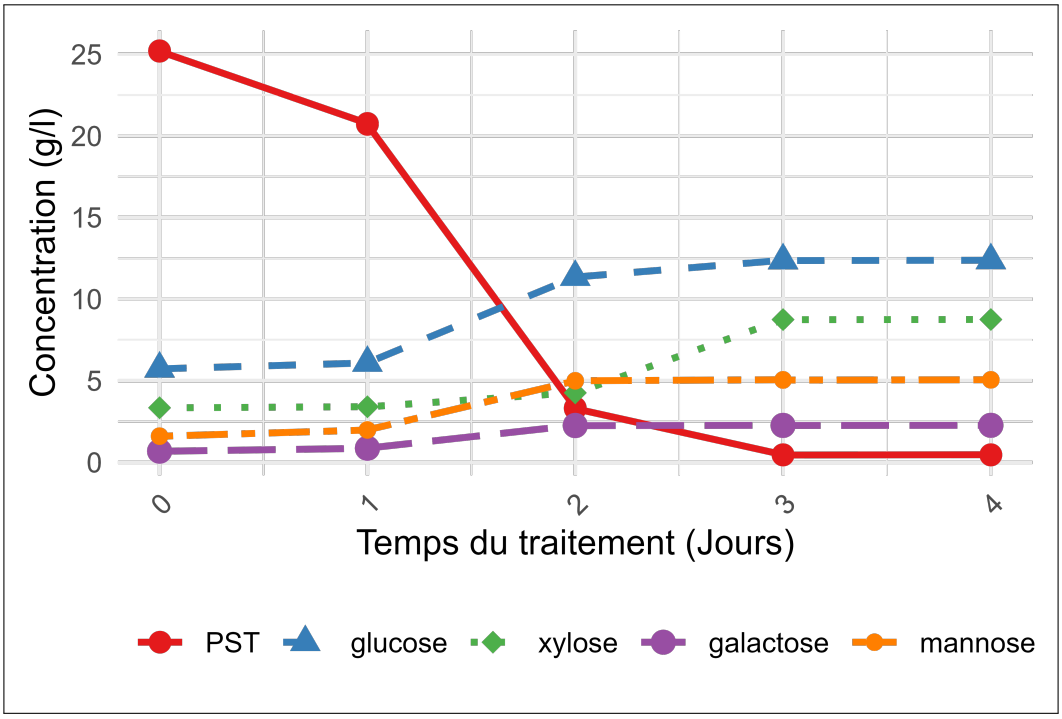


FIGURE II.9 . Traitement enzymatique (E) des sous-produits lignocellulosiques

❑ **Prétraitement biologique :**

Les résultats du prétraitement biologique (**Figure II.10**) ont montré que la dégradation de la cellulose est significative pour les deux souches étudiées. La souche *Trichoderma longibacterium* démontre une capacité de dégradation plus prononcée que la souche *Aspergillus niger*, diminuant respectivement de 9,51 g/l à 0,99 g/l et 1,91 g/l, au cours de

six jours d'incubation. Cependant, les deux souches dégradent relativement de manière similaire l'hémicellulose, atteignant des concentrations de 2,00 g/l pour *Aspergillus niger* et 1,98 g/l pour la souche *Trichoderma longibacterium*. En ce qui concerne le glucose, les deux souches se convertissent en concentrations plus élevées, la souche *Trichoderma longibacterium* montrant une légère avance. De même, la concentration de xylose augmente notablement pour les deux souches.

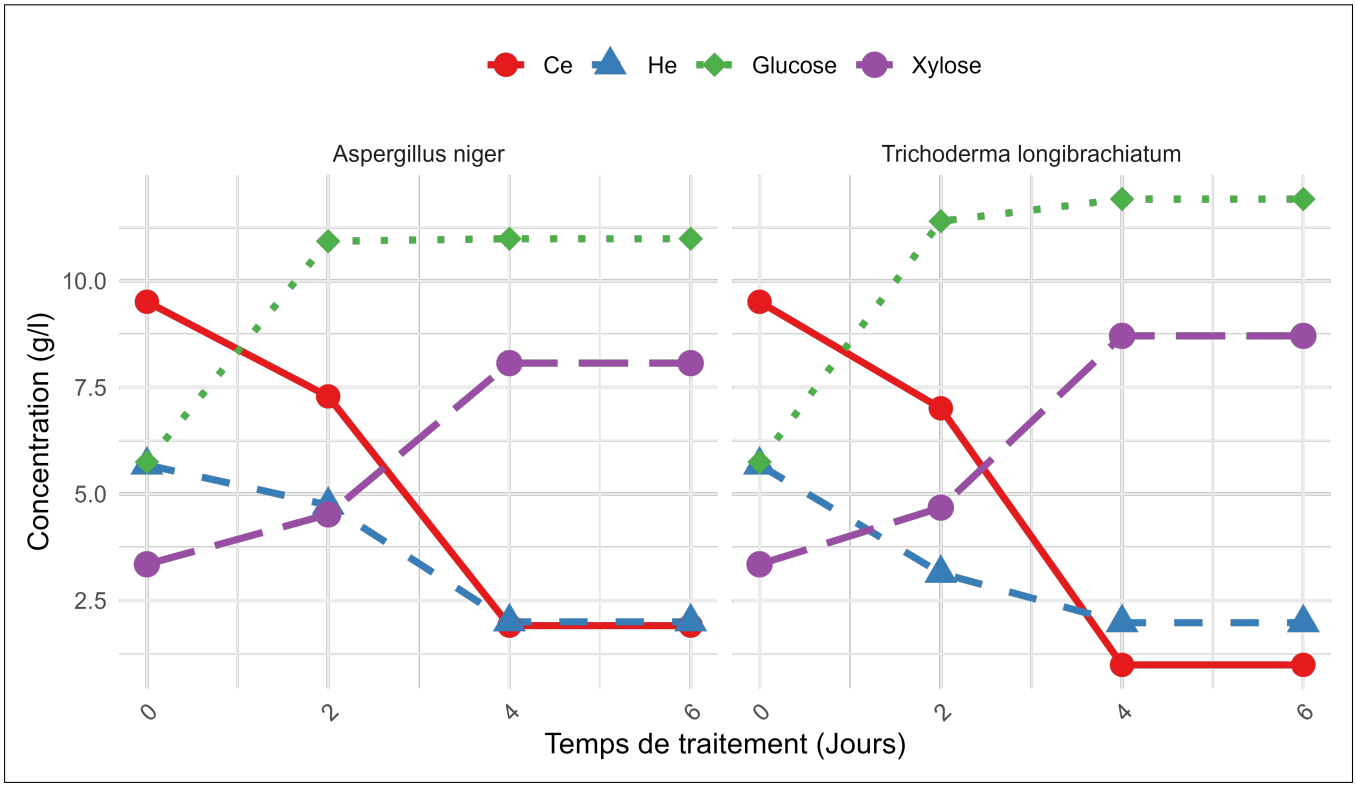


FIGURE II.10 . Effet du prétraitement biologique sur l'hydrolyse des polysaccharides et la libération de monosaccharides.

Prétraitement combiné :

La **Figure II.11** représente les résultats du traitement combiné entre les méthodes simples précédentes : chimiques, physique et enzymatique (Ac, EV et E).Le rendement de l'hydrolyse des polysaccharides est très important et ressemble les résultats obtenus par traitement Ac mais, d'une part, c'est une méthode qui demande assez du temps (presque 1 jour) par rapport aux traitement Ac et SE, et d'autre part, on peut la considérer relativement rapide en comparaison avec l'hydrolyse enzymatique qui demande à peu près 2.5 jours.

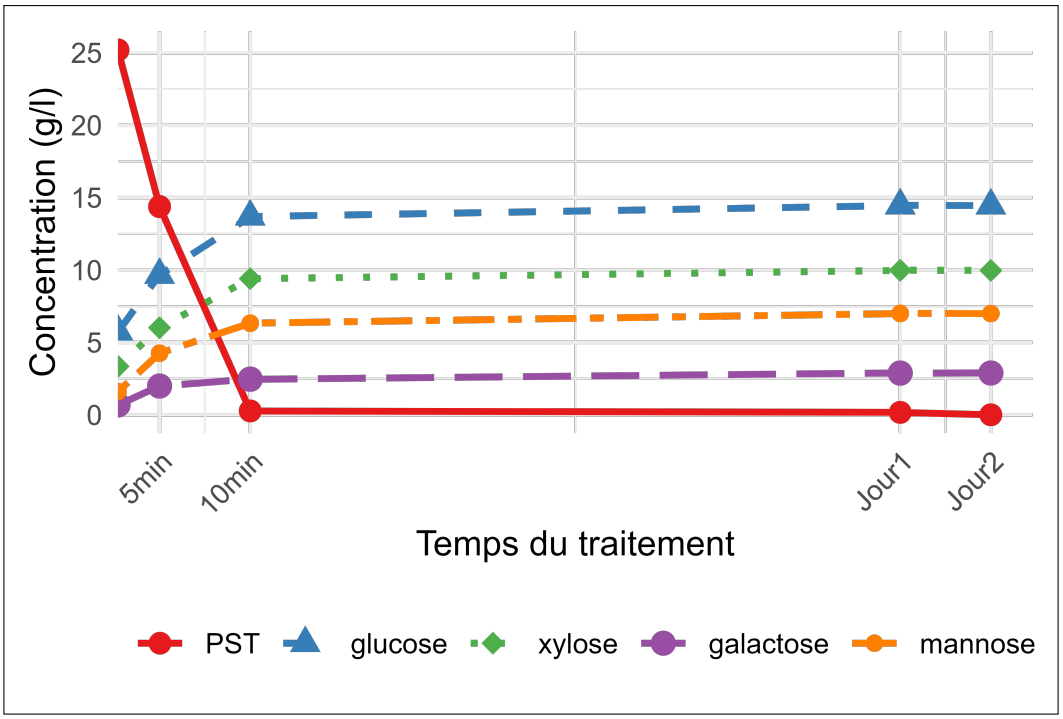


FIGURE II.11 . Traitement combiné (SE+Ac+E) des sous-produits lignocellulosiques

II.3.3 Dosage de composés phénoliques

Le résultat du dosage des composés phénoliques totaux libérés en comparaison avec l'hydrolyse des polysaccharides (Cellulose et Hémicellulose) par les différentes méthodes de traitement sont représentés dans la **Figure II.12**.

Les méthodes du traitement Ac et du traitement combiné sont efficaces dans l'hydrolyse de Ce et He. Après 30 minutes, le traitement par Ac a permis de dégrader Ce et He avec un taux de plus de 94% et par la méthode combinée, les polysaccharides sont digérés complètement.

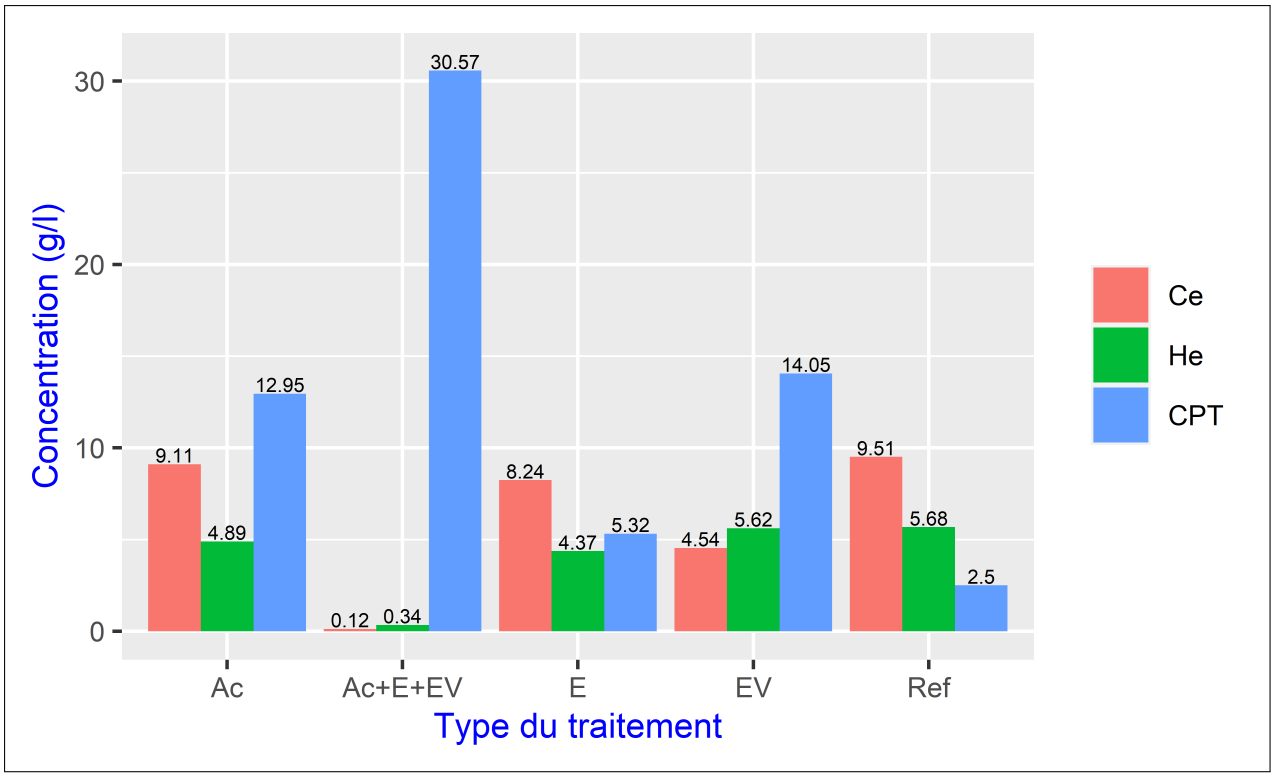


FIGURE II.12 . Comparaison des méthodes de traitement après 30 Mn de traitement. Ref représente les valeurs initiales

En revanche, les deux méthodes ont libéré une quantité significative de CPT qui a augmenté de 2.5/l à plus de 30g/l par rapport aux méthodes E et EV qui ont libéré un taux relativement faible de CFT qui représente respectivement 20.76g/l et 22.32 g/l.

Les méthodes de traitement simple E et EV semblent moins efficaces que les méthodes précédentes en termes de temps de l'hydrolyse, car elles nécessitent une durée assez longue pour assurer une dégradation significative du complexe lignocellulosique. Le traitement simple EV demande 20 min, soit le double du traitement acide pour dégrader la plupart des polysaccharides et le traitement simple E a besoin presque de 2 jours et demi.

L'analyse statistique par le test d'ANOVA a montré qu'il y a une différence significative entre les méthodes de traitement utilisées (**Figure II.13**).

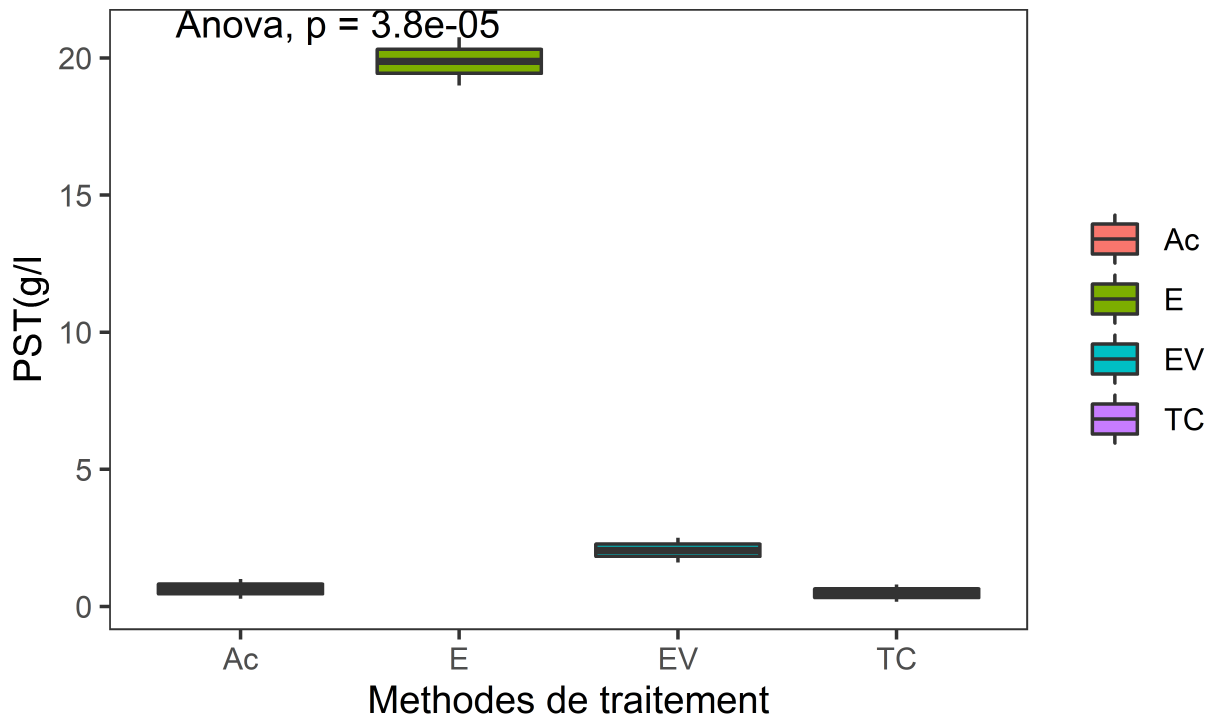


FIGURE II.13 . Comparaison de la concentration moyenne de PST par différentes méthodes après 30 minutes de traitement

Tukey test a montré que cette différence est entre la méthode de traitement « enzymatique » et les autres méthodes « Ac , EV et combiné » (**Tableau II.3**).

TABLEAU II.3 . Comparaison des méthodes de traitement par Tukey test

	test Tukey					
Type du traitement	**AC-TC**	**E-AC**	**E-TC**	**EV-TC**	**EV-E**	**EV-AC**
P-value	0.9967286	0.0000780***	0.0000759***	0.3171155	0.0000989***	0.3837972

*** Significative avec $p < 0.01$.

La méthode de traitement enzymatique n'est pas fiable donc par rapport aux autres méthodes en termes de temps demandé qui est très long.

Discussion

Les résultats de traitement simple acide par H_2SO_4(**AC**) et le traitement combiné (**TC**) ont montré une forte dégradation de polysaccharides soit respectivement 94,11% et 100% pour l'hydrolyse de la cellulose et 92,78% et 100% pour l'hémicellulose pendant une durée de traitement

de 30 min. Pour ces deux types de traitements, On a constaté aussi une libération importante de composés phénoliques. Malgré le traitement combiné demande un temps plus long mais au terme de l'efficacité reste rentable car il libère une quantité importante de sucres simples surtout le glucose et la xylose .

Le traitement par **EV** suivi par **AC** dans le traitement combiné a une influence importante sur l'hydrolyse enzymatique **E** car le traitement **EV** augmente l'accessibilité des enzymes aux constituants du complexe lignocellulosique cellulose et lignine. (Kumar et *al*., 2012; Stanley et *al*., 2022; Yu et *al*., 2022). Des travaux similaires réalisés sur la biomasse de "saule" ont montré que le prétraitement par EV suivi par le traitement enzymatique par l'enzyme de cellulase a permet de convertir 80% cellulose en glucose (Ziegler-Devin et *al*., 2019) .D'après de nombreuses études sur diverses biomasses telles que la paille de blé, il a été observé que le traitement à l'acide a un impact notable sur l'hydrolyse du polysaccharide d'hémicellulose en particulier (Solarte-Toro et *al*., 2019; Tian et *al*., 2018). Malgré l'efficacité du traitement à l'acide dans l'hydrolyse du polysaccharide d'hémicellulose, la libération de substances toxiques, qui inhibe la croissance de micro-organismes fermentants tels que l'acide acétique et le furfural (Bułkowska and Klimiuk, 2016), représente une limitation dans la bioconversion énergétique de la biomasse. Ainsi, dans le cadre de cette étude, l'idée d'appliquer un traitement combiné entre Ac, EV et E visait à minimiser l'effet toxique du traitement à l'acide.

Le traitement Ac simple est aussi très rentable , d'une part, le temps de traitement est court et d'autre part, il est efficace dans l'hydrolyse de la cellulose et l'hémicellulose. Cependant le traitement acide il est préférable de l'utiliser pour les biomasses contenant moins de lignine afin de ne pas libérer des grandes quantités des composés phénoliques qui sont considérés comme des inhibiteurs de fermentation (Stanley et *al*., 2022) mais par contre notre substrat contient une quantité non négligeable presque 23% du complexe lignocellulosique ce qui explique la quantité importante des composés phénoliques libérée . malgré l'efficacité de cette méthode dans la dégradation des polysaccharides du complexe lignocellulosique, mais elle présente certaines obstacles qui limitent son application sur l'échelle industrielle à savoir le cout élevé des réactifs, les corrosions des équipement due à l'acidité et la difficulté d'éliminer l'acide de l'hydrolysat obtenu après le traitement (Banu Jamaldheen et *al*., 2022; Barisik et *al*., 2016; Tian et *al*., 2018). Le traitement simple par EV et le traitement simple par E sont aussi rentables et efficaces . Cependant le traitement EV est couteux et consomme beaucoup d'énergie (Tang et *al*., 2018) et le traitement E demande un long temps de traitement et ne permet de convertir qu'une faible

quantité de biomasse environ 11% en bioénergie (Dharma Patria et *al*., 2022) ce qui lui rend inapplicable sur l'échelle industrielle et non bénéfiques pour les investisseurs. Vu l'objectif visé par cette étude qui est le choix d'une méthode de traitement adéquate et qui doit prendre en considération le temps de traitement, l'efficacité et d'être non polluante, la méthode de traitement combinée malgré le temps long de prétraitement pourra être la meilleure par rapport aux autres méthodes testées dans cette étude.

II.4 Conclusion

Le choix de la méthode de prétraitement appropriée est une étape cruciale dans le processus de bioconversion de la biomasse lignocellulosique. Les résultats de cette étude mettent en évidence l'efficacité et la rentabilité du prétraitement combiné par rapport aux prétraitements simples tels que l'acide, l'explosion à vapeur et l'enzymatique. En outre, le prétraitement combiné se distingue par son caractère relativement non polluant, ce qui en fait une option très prometteuse pour la transformation de la BLC.

L'un des principaux avantages du prétraitement combiné réside dans sa capacité à hydrolyser la quasi-totalité des polysaccharides présents dans le complexe lignocellulosique. Cela signifie que la conversion des polysaccharides en sucres simples, qui peut être utilisée ultérieurement dans la production de biocarburants ou d'autres produits dérivés, est très efficace. Cette efficacité est essentielle pour maximiser le rendement global du processus de bioconversion.

De plus, le prétraitement combiné se démarque par son caractère relativement non polluant par rapport aux prétraitements simples. Cela est en grande partie attribuable à l'incorporation de matériel biologique, tel que des enzymes et des souches microbiennes, dans cette méthode de traitement. Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui facilitent la dégradation des composants de la biomasse sans générer de déchets nocifs ou de produits chimiques toxiques. Par conséquent, le prétraitement combiné a un impact environnemental moindre, ce qui est un avantage considérable dans le contexte actuel de préoccupation croissante pour la durabilité environnementale.

En résumé, les résultats de cette étude a mis en évidence que le prétraitement combiné est une option extrêmement attractive pour la bioconversion de la biomasse lignocellulosique. Ce type de prétraitement représente une avancée significative dans le domaine de la biotechnologie verte et offre un potentiel considérable pour répondre aux besoins croissants en matières

premières renouvelables et durables.

CHAPITRE III

VALORISATION DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE : PRODUCTION D'ENZYMES LIGNOCELLULOLYTIQUES ET DE BIOÉTHANOL

*Research Journal of Chemistry and Environment*_____Vol. **28 (9)** September **(2024)**
Res. J. Chem. Environ.

Optimization of Lignocellulosic Enzyme production by Microbial Strains: Study of Kinetics and Environmental Influences

Bendaoud A.*, Hmamou A., Moussaoui F., Eloutassi N. and Lahkimi A.
Laboratory of Engineering, Electrochemistry, Modelization and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz,
Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, MOROCCO
*ahmed.bendaoud1@usmba.ac.ma

Abstract
In the context of valorizing lignocellulosic biomass for biofuel production a mixture of forest residues (FW) and aromatic-medicinal plant wastes (AMPW) was considered in this study to assess its ability to support the production of cellulolytic enzymes by Aspergillus niger, Trichoderma longibrachiatum and Zymomonas mobilis.

The residue mixture promoted growth and cellulase production by the microbial strains after 6 days of incubation. Enzymatic activity was determined using filter paper activity (FPase) and endoglucanase carboxymethylcellulase (CMase) assays. Optimization of enzymatic activity was investigated at pH levels (2, 4, 6, 8), various temperatures (22°C, 30°C, 37°C, 45°C) and different inoculum rates (1.5 × 107, 2 × 107 and 2.5 × 107 spores per gram of substrate). Maximum enzymatic activity was observed in Aspergillus niger with FPase and CMCase yields of 23.12 ± 0.1 and 29.78 ± 0.15 U/gds respectively. The highest enzymatic activity was recorded at temperatures of 30°C and 37°C, pH levels of 4 and 6 and with an inoculum rate of 2.5 × 107. The selection of the strain and the optimization of operational conditions are crucial for efficient enzymatic production in the context of biorefinery.

Keywords: Cellulase, Lignocellulosic biomass, Biofuel, Endoglucanase, Filter paper activity.

Introduction
Forest residues (FW) and waste from aromatic and medicinal plants (AMPW) represent significant raw materials in the Fes-Meknes region of Morocco that can be transformed into energy products (bioethanol, biogas) and biomaterials[4,5,9]. The primary constituents of this lignocellulosic biomass including cellulose (30 to 45%), hemicellulose (25 to 35%), lignin (10 to 25%) and assorted other compounds, collectively make up these residues[28,35,46].

The bioconversion process plays a central role, as it facilitates the transition from pretreated lignocellulosic biomass, considered as raw material, to the creation of final products with high added value. On one hand, the goal is to release and convert sugars previously trapped in lignocellulose into biofuels, notably ethanol. However, it is imperative to emphasize that this bioconversion stage is dependent on the prior production of lignocellulolytic enzymes[16,21].

These enzymes are responsible for deconstructing the complex structure of lignocellulose and their efficiency is crucial for the success of the entire process. Enzymes play a fundamental role in cellulose decomposition, thereby releasing sugars that will serve as raw material for ethanol production. This preparatory phase is an essential prerequisite for the success of the conversion process, highlighting the interdependence and complementarity between enzyme production and biofuel production stages.

The hydrolysis of the lignocellulosic complex can be manipulated by various microorganisms including *Aspergillus niger*[37], *Bacillus pumilus*[2], *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*[1], *Trichoderma reesei*[8], *Pseudomonas sp*[29], *Zymomonas mobilis*[24], *Phanerochaete chrysosporium*[22], *Penicillium echinulatum*[36] and *Aspergillus Phoenicis*[38]. These microorganisms secrete various enzymes including cellulases to break down polysaccharides into fermentable monosaccharides. This process involves three key enzymes: exoglucanase (EC 3.2.1.19), facilitating the release of cellobiose from cellulose ends; endoglucanase (EC 3.2.1.4), responsible for the non-selective hydrolysis of cellulose chains; and β-glucosidase (EC 3.2.1.37), directing the conversion of cellobiose into glucose[10, 37].

Researchers are actively engaged in collaborative efforts to investigate a range of lignocellulosic residues[17,18] for the production of cellulases. Among the lignocellulosic residues are apple pomace [12], oil palm empty fruit bunches[1], coir pith[19], sugarcane bagasse[25], grape pomace [13], switchgrass, corn stover[41], corn cobs and rice husk[3]. The cost-effective utilization of these abundantly available residues has a significant part in reducing the overall production costs of enzymes, given that raw materials contribute 40 to 60% of the total production cost[38]. In this perspective, it remains imperative to explore various lignocellulosic residues to develop efficient fermentation media for cellulase production, thereby paving the way for broader industrial applications.

This study aimed to evaluate the efficiency of a mixture of forest residues and waste from aromatic and medicinal plants

**** Author for Correspondence***

JEE *Journal of Ecological Engineering*
Journal of Ecological Engineering 2024, 25(10), 353–362
https://doi.org/10.12911/22998993/191748
ISSN 2299–8993, License CC-BY 4.0
Received: 2024.07.11
Accepted: 2024.08.21
Published: 2024.09.01

Efficient Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass Using Diverse Microbial Strains

Ahmed Bendaoud[1*], Abdelkhalek Belkhiri[2], Anouar Hmamou[1], Sara Tlemcani[1], Noureddine Eloutassi[1], Amal Lahkimi[1]

[1] Laboratory of Engineering, Electrochemistry, Modelization and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, Morocco
[2] Laboratory of Bioactives-Health and Environment, Faculty of Sciences Meknes, Meknes 50000, Morocco
* Corresponding author's e-mail: ahmed.bendaoud1@usmba.ac.ma

ABSTRACT
Forestry residues (FR) and medicinal-aromatic plant waste (MAPW) are considered potential resources for energy recovery. In this context, we explore the bioethanol production potential of three microbial strains *Aspergillus niger*, *Zymomonas mobilis*, and *Trichoderma longibrachiatum* using this lignocellulosic hydrolysate as a substrate. The blend of FR and MAPW was pretreated by different methods like acid sulfuric (AS), steam explosion (SE), and enzymatic (E). The ethanol yield was measured by gas chromatography (GC). *Zymomonas mobilis* demonstrated the highest ethanol yield of 5.95% on untreated substrate. Conversely, *Aspergillus niger* exhibited peak performance with an ethanol yield of 10.78% following AS, SE and E combined pretreatment. *Trichoderma longibrachiatum*, yielded ethanol ranging from 1.27% to 2.47%. Furthermore, the use of immobilized *d'Aspergillus niger* strains revealed a small decrease in ethanol yield from 11.34% in the first cycle to only 5.02% in the sixth cycle. In conclusion, *Aspergillus niger* emerges as a promising candidate due to its dual functionality in pretreatment and ethanol fermentation, offering pathways for advancing sustainable biofuel technologies.

Keywords: biomass, bioethanol, lignocellulosic biomass, *Aspergillus niger*, *Zymomonas mobilis*, *Trichoderma longibrachiatum*, pretreatment, fermentation.

INTRODUCTION

Concern for our environment and anxiety related to our dependence on imported oil have rekindled interest in fuels (bioethanol and biogas) and chemicals derived from plants. Fuel production from plant materials supports CO_2-neutral energy production (Antoni et al., 2007; Eloutassi, 2014b). Lignocellulosic biomass, such as forestry residues and waste from aromatic and medicinal plants (Bendaoud 2022; Bendaoud, 2023), are substrates that can be used to produce biofuel. The microbial conversion of sugars derived from plant biomass includes a variety of processes using various microorganisms and enzymes to produce ethanol (Yerizam., 2023).

The yeast *Saccharomyces cerevisiae* is used worldwide as the main ethanol-producing microorganism. Despite its widespread use, it has several disadvantages such as high aeration costs, high biomass production, low tolerance to temperature and ethanol (Saigal, 1993). Consequently, several microorganisms have been tested for ethanol production in recent years. Among these are strains of *Aspergillus niger, Trichoderma longibrachiatum*, and *Zymomonas mobilis*.

Aspergillus niger is a mold widely exploited commercially in various fermentation techniques to produce useful enzymes such as pectinase, lactase, cellulase, and amylase (Gautam et al., 2011; Sheng Xue et al., 2018). *Aspergillus niger* is also capable of consuming and converting other lignocellulose-derived compounds, such as acetic acid (Alhadithy., 2023), furanic aldehydes, and phenolic compounds, which are known as inhibitors of ethanolic fermentation. Similarly, *Trichoderma*

III.1 Introduction

Ce chapitre s'est consacré à une étape cruciale de notre recherche, à savoir la conversion de la biomasse lignocellulosique préalablement caractérisée et prétraitée à l'aide de diverses méthodes physico-chimiques et biologiques. Il s'agit d'une phase de transformation essentielle qui s'inscrit dans un contexte temporel spécifique de notre étude. D'une part, en amont de cette étape de conversion, nous avons déjà abordé la production d'enzymes lignocellulolytiques, qui sont des catalyseurs biologiques clés dans la dégradation de la lignocellulose. Ces enzymes sont nécessaires pour libérer les sucres emprisonnés dans la structure complexe de la biomasse lignocellulosique. D'autre part, en aval de cette conversion, nous aurions concentré notre travail sur la production de bioéthanol.

la levure *Saccharomyces cerevisiae* est utilisée dans le monde entier comme principal microorganisme producteur d'éthanol. Malgré son utilisation étendue, elle présente plusieurs inconvénients tels que des coûts élevés en aération, une production de biomasse importante, une faible tolérance aux températures et à l'éthanol (Saigal, 1993). Par conséquent, plusieurs microorganismes ont été testés pour la production d'éthanol au cours des dernières années. Parmi ceux-ci, on trouves les souches d'*Aspergillus niger*, *Trichoderma longibrachiatum* et *Zymomonas mobilis*.

Aspergillus niger est un moisissure largement exploité commercialement dans diverses techniques de fermentation pour la production d'enzymes utiles telles que la pectinase, la lactase, la cellulase et l'amylase (Gautam et *al*., 2011; sheng Xue et *al*., 2018). *Aspergillus niger* était également capable de consommer et de convertir d'autres composés dérivés de la lignocellulose, tels que l'acide acétique, les aldéhydes furaniques et les composés phénoliques, qui sont reconnus comme inhibiteurs de la fermentation éthanolique.

De même, *Trichoderma longibrachiatum* est un champignon que l'on trouve souvent sur le bois mort, des matériaux de construction et parfois des animaux. Cette espèce est capable de croître sur une large gamme de températures ; cependant, la température optimale de croissance est 35 °C (Druzhinina et *al*., 2012). *T. longibrachiatum* est une espèce clonale qui se reproduit par des conidies unicellulaires à paroi lisse (Bissett et *al*., 2015).*T. longibrachiatum* est bien connu pour la production d'enzymes dégradant la paroi cellulaire. Les espèces de Trichoderma sont parmi les souches microbiennes commerciales les plus utilisées pour la production de cellulases.

Zymomonas mobilis a émergé comme une alternative potentielle à la levure actuellement utilisée pour la production d'éthanol et a été signalée par le National Renewable Energy Laboratory (NREL) de Golden, CO, USA, capables de convertir efficacement en éthanol les sucres C5, xylose et arabinose, présents dans les hydrolysats lignocellulosiques (Zhang et *al*., 1995; Deanda et *al*., 1996). Comparé au modèle classique d'éthanologue, *Saccharomyces cerevisiae*, qui utilise la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) pour la glycolyse, *Z. mobilis* utilise la voie d'Entner-Doudoroff (ED). La voie ED se trouve chez les microorganismes strictement aérobies et conduit à la fermentation avec une production d'ATP inférieure de 50% par rapport à la voie EMP, ce qui conduit à un rendement en éthanol amélioré. De plus, *Z. mobilis* possède une surface cellulaire spécifique élevée et consomme le glucose plus rapidement que *S. cerevisiae*, ce qui entraîne une productivité en éthanol plus élevée que *S. cerevisiae* (Conway, 1992).

Ce chapitre explore deux étapes interconnectées visant à valoriser la biomasse lignocellulosique (BLC) pour la production de bioéthanol : la production en amont des enzymes lignocellulolytiques, qui prépare la biomasse à être convertie en bioéthanol en aval par les trois souches microbiennes étudiées. Cette approche globale s'inscrit dans notre démarche pour exploiter pleinement la biomasse lignocellulosique en tant que ressource renouvelable.

III.2 Matériel et méthodes

III.2.1 Matériel végétal utilisé pour la production des enzymes et la fermentation alcoolique

Les substrats utilisés pour la production des enzymes lignocellulolytiques sont ceux préalablement prétraités (chapitre II, partie pratique) et qui sont constitués d'un mélange de résidus DF, DPAMe et DPAMn.

III.2.2 Prétraitement : Hydrolyse et saccharification de la biomasse lignocellulosique

Le processus de prétraitement de notre substrat est décrit en détail dans le chapitre précédent. Le mélange de résidus DF, DPAMe et DPAMn, a subi un prétraitement physico-chimique par explosion à la vapeur, où un kilogramme de mélange de substrat a été lavé et traité à la vapeur dans un autoclave à 200°C pendant 30 minutes. Ensuite, un prétraitement acide a été effectué en immergeant la biomasse dans une solution diluée d'acide sulfurique à 1% et en la chauffant à 100°C pendant 30 minutes, suivie d'une filtration pour séparer les solides de la solution acide. Enfin, un prétraitement enzymatique a été réalisé en utilisant des cellulases extraites

d'*Aspergillus niger* et *Trichoderma longibrachiatum* pour catalyser l'hydrolyse enzymatique des ces substrats.

III.2.3 Détoxification

Pour réduire l'effet des composés phénoliques sur la croissance de microorganismes responsables de la fermentation, on détoxifie le milieu. La détoxification est réalisée en augmentant le pH à 9 avec Ca (OH) 2, ensuite la solution est filtrée et le pH est ajusté à 7 avec H_2S0_4 (2N).

III.2.4 Microorganismes et Préparation de l'inoculum

Les souches utilisées pour la production des enzymes cellulases, à savoir Aspergillus niger EF97 et Trichoderma longibrachiatum KT693225 (Abdel Wahab et *al*., 2018), nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Institut Agronomique et Vétérinaire de Rabat en 2022. Le substrat lignocellulosique, utilisé comme matière première pour la préparation de l'inoculum, a été cultivé et les spores fongiques récoltées selon la méthode décrite précédemment.

Z. mobilis ATCC 29501 nous ont été fournies aussi par le laboratoire de microbiologie de l'Institut Agronomique et Vétérinaire de Rabat en 2022. Le milieu de culture mère dans une plaque était composé d'extrait de levure (5 g/L), de glucose 20 g/L et d'agar 20 (g/L) à pH 5, avec une culture à 30°C pendant 2 jours.

III.2.5 Dosage des enzymes :cellulases

La **Figure III.2** représente les étapes du processus de production d'enzymes cellulolytiques. Le milieu de sels minéraux, utilisé dans la production de cellulase et décrit par Mandels et Weber en 1969, est préparé en mélangeant les composants suivants : K_2HPO_4 (2 g), $(NH_4)_2SO_4$ (1,4 g), urée (0,3 g), $MgSO_4.7H_2O$ (0,3 g), $CaCl_2$ (0,3 g), $FeSO_4.7H_2O$ (5,0 mg), $MnSO_4.H_2O$ (1,56 mg), $ZnSO_4$.7H2O (1,4 mg), $CoCl_2$ (2,0 mg), peptone (0,75 g), extrait de levure (0,25 g), le tout dissous dans de l'eau distillée pour atteindre un volume total de 1 litre. Le pH du milieu est ajusté à 5. Après la préparation, le milieu est stérilisé par autoclave à 121°C pendant 20 minutes (MANDELS, 1969). Notre substrat composé d'un mélange de résidus (DF) et de (DPAMe et DPAMn) a été utilisé comme substrat pour la production de l'enzyme par fermentation en milieu liquide. Des flacons Erlenmeyer contenant 5 g de substrat ont été humidifiés avec le milieu de Mendels et Weber (agent humidifiant) à un taux de 70% pour la production de cellulase. Les

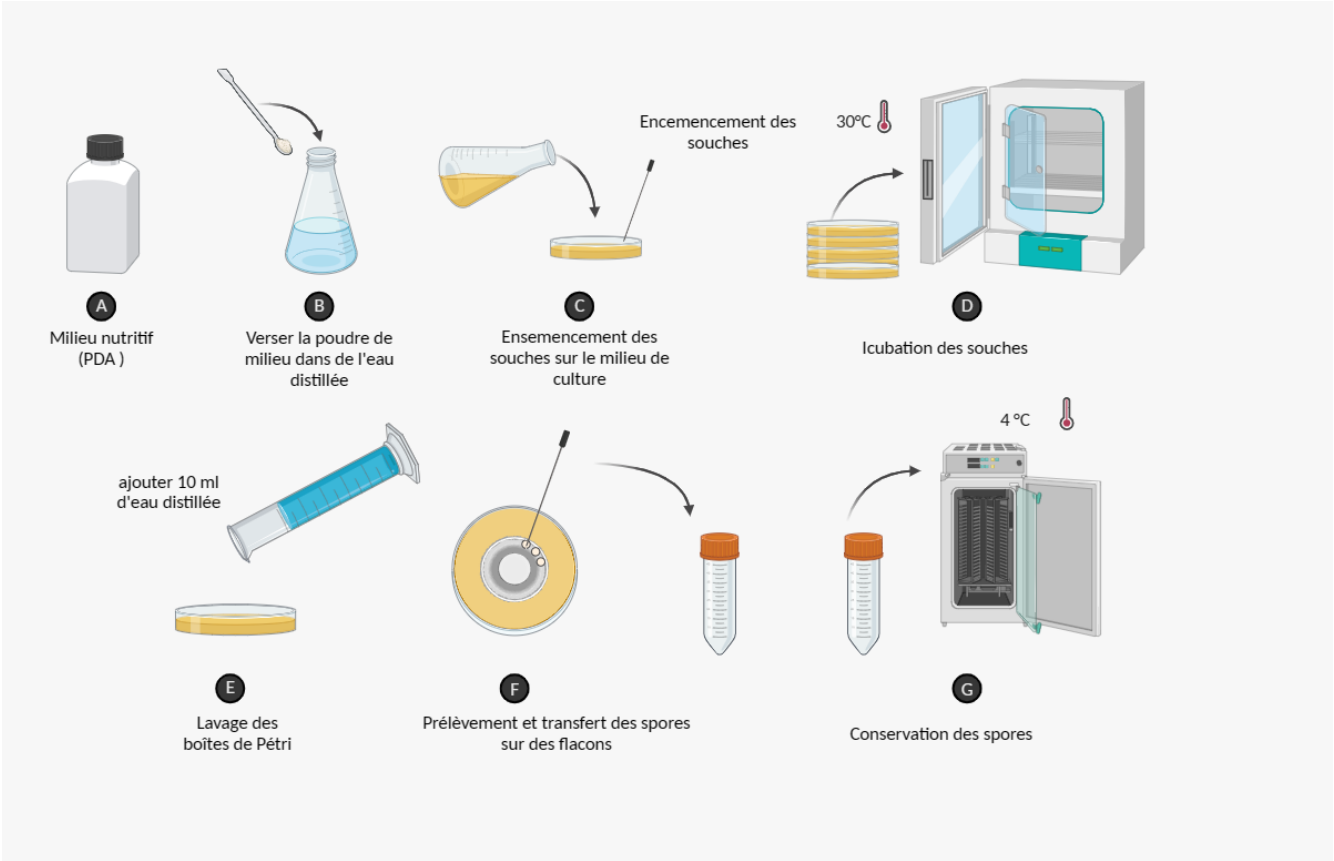


FIGURE III.1 . Processus de préparation de d'inoculum

flacons sont inoculés avec une suspension sporale à une concentration de 10^7 spores par gramme de substrat (poids sec). L'ensemble est soigneusement homogénéisé (Liao et *al.*, 2015). Les Erlenmeyer ainsi préparés sont ensuite placés en incubation à une température de 28°C dans une étuve pendant une période de 7 jours. Les enzymes ont été récupérées par extraction avec un tampon citrate 0,1 N (pH 4,8) après la période d'incubation. L'extrait a été centrifugé pour éliminer les débris à 10 000 tr/min pendant 10 min à 4 °C (Sukumaran et *al.*, 2009) et a été utilisé comme échantillon d'enzyme brute pour le dosage des activités enzymatiques (PFase et CMCase) et l'hydrolyse de la biomasse.

III.2.5.1 Dosage de l'activité Enzymatique

Les activités cellulolytiques sont déterminées à l'aide de deux méthodes : la méthode d'activité sur papier filtre (FPase) pour estimer l'activité totale de la cellulase dans la préparation d'enzyme brute selon la méthode de Ghose (Ghose, 1987) et la méthode de carboxyméthylcellulase (CMCase) pour déterminer l'activité endoglucanase Carboxyméthylcellulase. Une unité de CMCase (carboxyméthylcellulase) a été définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour li-

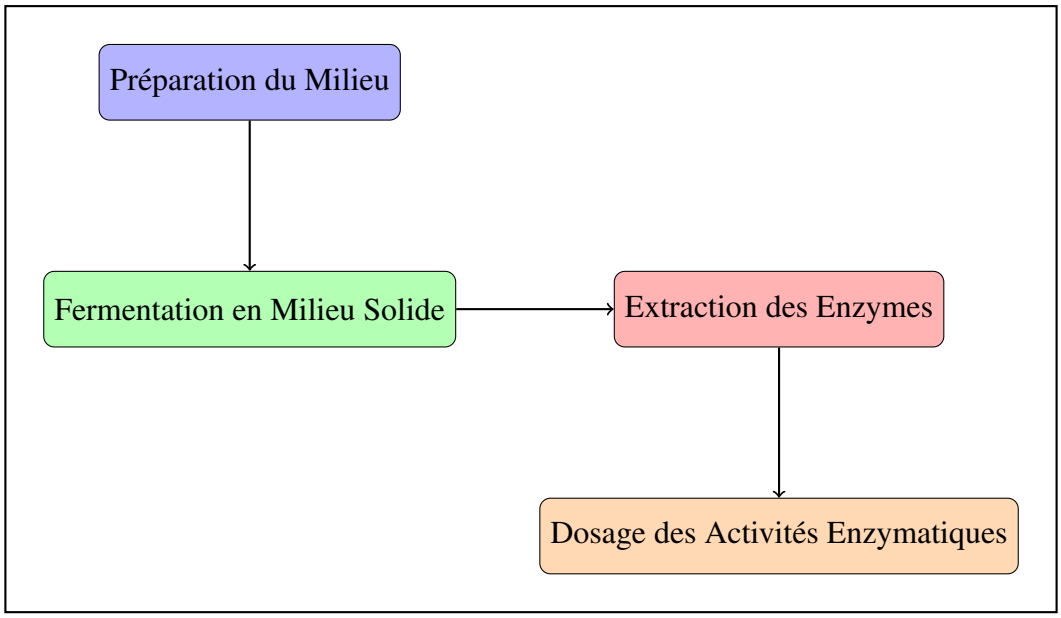


FIGURE III.2 . Schéma du processus de production d'enzymes cellulolytiques

bérer 1 mM de sucre réducteur par ml par minute et a été exprimée en U/gds (unités par gramme de substrat sec) ou U/ml. L'activité totale de la cellulase a également été exprimée de manière similaire.

Activité sur papier filtre (FPase) : La méthode consiste à déterminer l'activité totale de l'extrait enzymatique. Le mélange réactionnel est constitué d'une solution d'enzyme (0.5 ml), 1 ml de tampon citrate (0,05mM, pH 4.8) et de 50 mg de papier filtre Wattman, incubés à 50°C pendant 60 minutes (Ghose, 1987).

Activité endoglucanase carboxyméthylcellulase (CMCase) : L'activité (CMCase) a été déterminée en utilisant le carboxyméthylcellulose à (2%) comme substrat dans un tampon citrate de sodium, (50 mM, pH 4.8). Le mélange réactionnel contenait 0,5 ml d'extrait enzymatique et 0,5ml de substrat, ce mélange a été incubé à 50 °C pendant 30 minutes (Ghose, 1987) . l'activité est calculée en référence à une courbe d'étalonnage établie en utilisant du glucose comme standard avec une concentration de la solution mère à 0,0167 mol/L(0.3 mg/ml) (**Figure III.3**). L'activité enzymatique est exprimée en unités par gramme de matière sèche (U/gds).

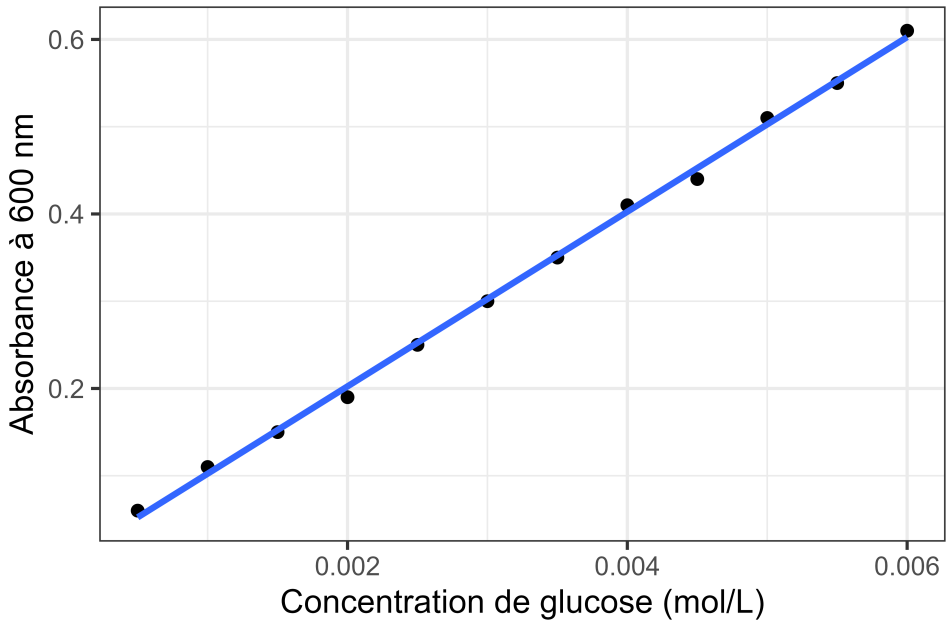


FIGURE III.3 . Courbe d'étalonnage du glucose pour le dosage des activités FPase et CMCase

La quantité de sucres réducteurs libérés par l'hydrolyse de FPase et CMCase est mesurée à l'aide de la méthode de Miller par une réaction colorimétrique impliquant le réactif d'acide dinitrosalicylique (DNS) (Miller, 1959b).

III.2.5.2 Optimisation de la production enzymatique

L'optimisation des conditions de production des enzymes par les trois souches sélectionnées dans cette étude, est la technique d'optimisation classique (Un facteur à la fois). Les variables étudiées sont : la température, le pH, et le taux d'inoculum.

Cette méthode est basée sur la variation d'un seul facteur pendant que les autres facteurs sont gardés à des niveaux constants. Ce protocole permet d'évaluer l'effet individuel d'un paramètre et d'incorporer par la suite sa valeur optimale avant de passer à l'optimisation du paramètre suivant. Après chaque étape d'optimisation, la mesure de l'activité FPase et CMCase (Ghose, 1987) des extraits enzymatiques est déterminée dans les conditions standards. L'activité enzymatique est calculée en unité par gramme de matière sèche (U/gds). Tous les dosages sont réalisés en triple.

Paramètres cinétiques :

Effet de température : Afin de déterminer la meilleure température pour la cinétique de l'activité enzymatique par les souches étudiées. La fermentation a été réalisée à 22, 30, 37 et 45°C avec un pH, un taux d'inoculum et pendant un temps optimal déterminés précédemment.

Effet de pH L'effet du pH est déterminé par la mesure de l'activité enzymatique à différents PH : 2, 4, 6 et 8 en maintenant une température, un taux d'inoculum et un temps optimales précédemment déterminés.

Effet de taux d'inoculum Afin de déterminer le taux d'inoculum optimale pour la production d'enzymes, des fermentations ont été effectuées à des concentrations de $1{,}5 \times 10^7$, 2×10^7, et $2{,}5 \times 10^7$ spores par ml de suspension, en maintenant une température, un pH et un temps optimales précédemment déterminés.

III.2.6 Fermentation alcoolique : Production de bioéthanol

La **Figure III.4** présente le processus à suivre pour produire le bioéthanol à partir d'un hydrolysat de mélange de sous-produits végétaux lignocellulosiques :

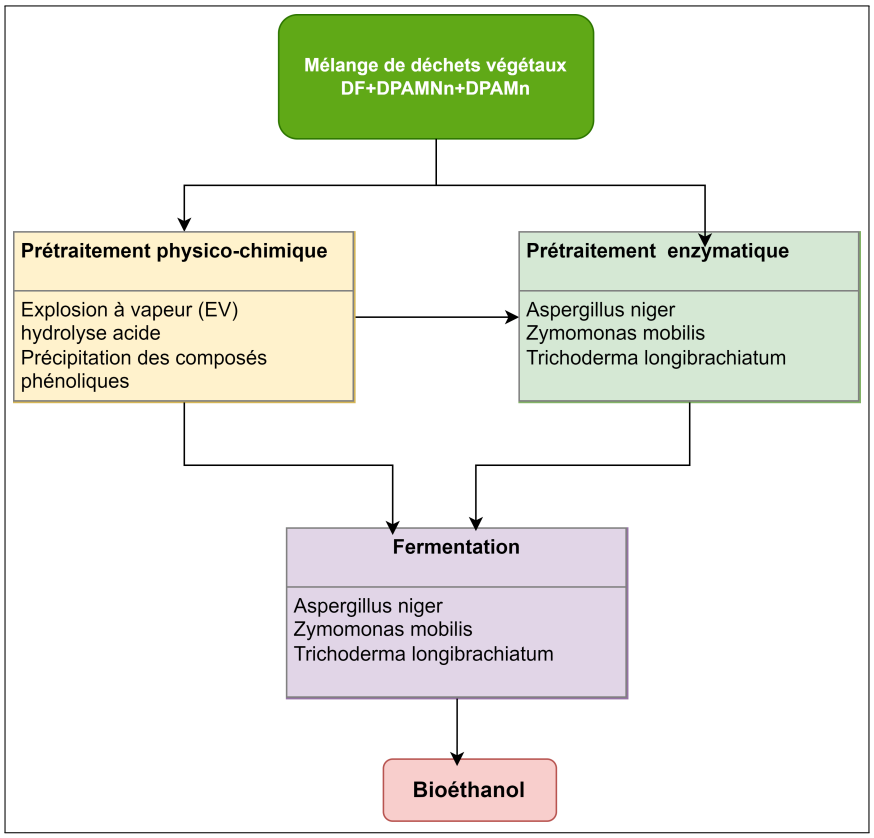


FIGURE III.4 . Procédé de production du bioéthanol à partir des sous-produits lignocellulosiques

Une culture en suspension de chaque souche a été inoculée dans 25 ml de milieu de fermentation (dans des flacons Erlenmeyer de 100 ml) contenant une solution saccharifiée de BLC de l'étape précédente (prétraitement). Un extrait de microorganismes (2 g/L) a été ajouté comme additif au milieu de culture pour améliorer la croissance. La fermentation a été réalisée à 37 °C sous agitation pendant 48 h. L'éthanol a été estimé par chromatographie en phase gazeuse (GC) à l'aide d'une colonne capillaire HP-5 équipée d'un injecteur Agilent série 6890.

III.2.7 Dosage des fibres, sucres réducteurs et composés phénoliques

Le dosage de fibres , de sucres réducteurs et de composés phénoliques suit les mêmes protocoles expérimentales décrit sur sections du chapitre I de la partie pratique.

III.2.8 Détermination de la biomasse cellulaire

La croissance cellulaire a été déterminée par la mesure de la densité optique à 625 nm (Spectronic 20 Boch Lamb) et par la détermination du nombre de cellules viable par la technique de dilution et étalement sur milieu solide. La biomasse est mesurée par gravimétrie, en centrifugeant un échantillon de 10 ml à 12000 g-1 pendant 15 minutes, suivie de lavage et de séchage des cellules à 105°C jusqu'à l'obtention du poids constant. Le dosage des protéines est effectué selon la méthode modifiée de Lowry modifiée. La gamme étalon est réalisée avec le BSA (Sérum d'Albumine bovine) à 0,1 mg/ml.

III.2.9 Immobilisation des spores d'Aspergillus

Le processus d'immobilisation implique l'encapsulation des cellules de levure dans une matrice biopolymérique qui fournit un environnement protecteur pour les cellules et leur permet de maintenir leur activité métabolique. L'alginate a été utilisé comme matrice pour l'immobilisation en raison de sa biocompatibilité et de ses propriétés de gélification facile, tandis que la cellulose confère une résistance mécanique et une stabilité aux perles. L'immobilisation des spores d'*Aspergillus niger* a été réalisée dans des conditions stériles dans de l'alginate de sodium. Pour 180 mL de solution d'alginate (30 g/L), 20 mL de spores de moisissures suspendus dans de l'eau stérile, ont été ajoutés. Chaque mélange a ensuite été ajouté goutte à goutte à du chlorure de calcium à 0,1 mol/L (300 mL), froid et légèrement agité, et laissé solidifier pendant 1 h (Ahmad Raus et *al.*, 2021).

III.3 Résultats et discussion

III.3.1 Cinétique de la production des enzymes

Après la culture des souches (**Figures III.5, III.6, III.7**), et l'inoculation, nous avons suivi la cinétique de production des enzymes de celles-ci.

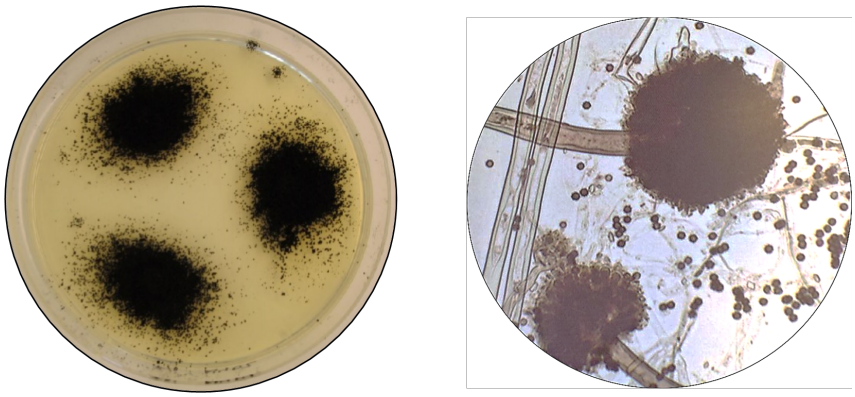


FIGURE III.5 . Colonies âgées de deux semaines d'*A. niger* poussant sur un milieu riche PDA avec une observation microscopique d'un conidiophore d'*A. niger* produisant des spores (microscope optique x 400).

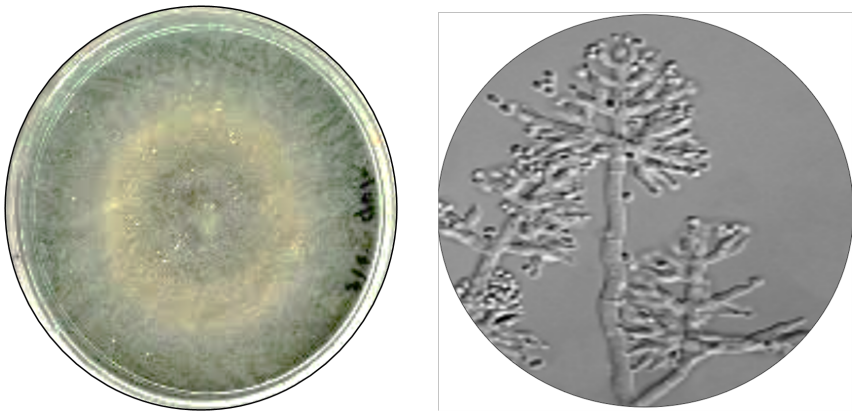


FIGURE III.6 . Photo microscopique de *Trichoderma longibrachiatum* (microscope optique x 400)

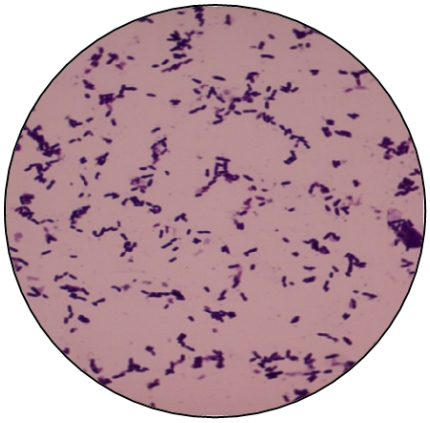


FIGURE III.7 . Photo microscopique de *Zymomonas mobilis* colorées par cristal violet (microscope optique x1000)

Le graphique de la **Figure III.8** représente l'activité enzymatique (mesurée en U/gds) des trois souches étudiées (*Aspergillus niger*, *Trichoderma longibrachiatum et Zymomonas mobilis*) pour deux types d'activité enzymatique (PFase et CMCase) à différents temps d'incubation :

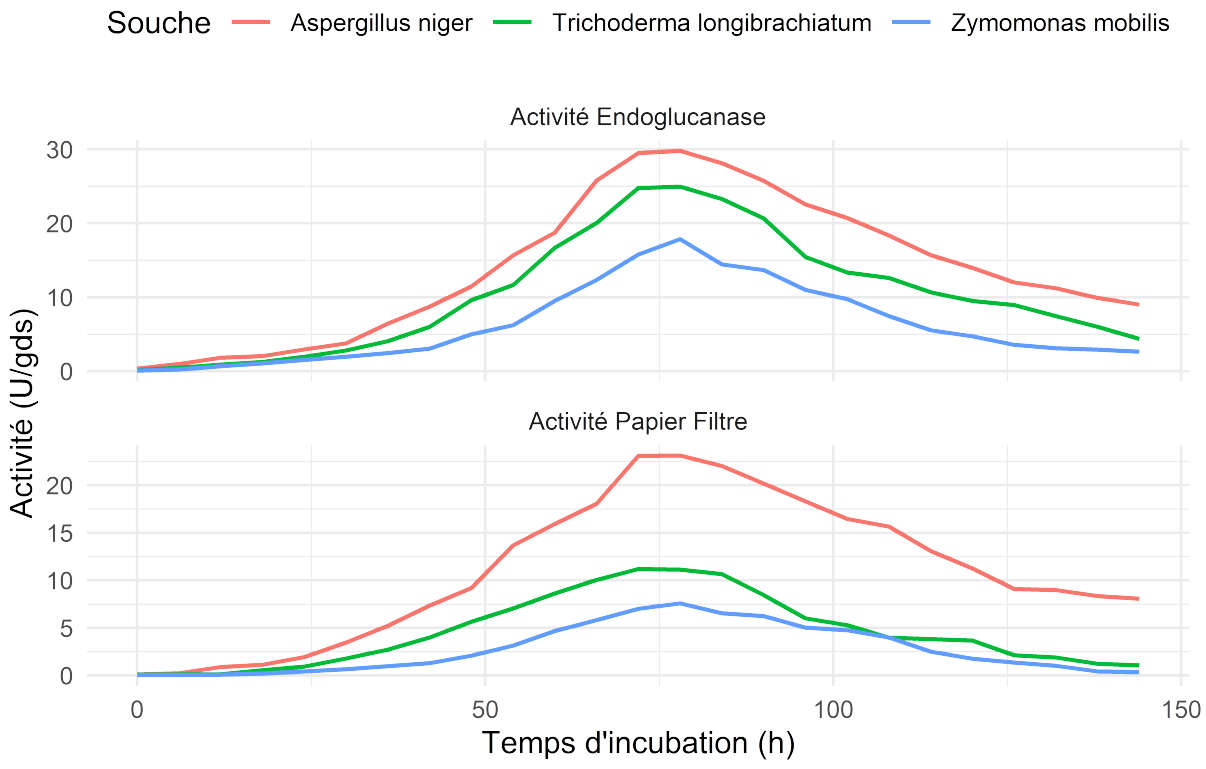


FIGURE III.8 . Cinétique de production d'enzymes

A partir de ces résultats, on a observé :

➢ Une augmentation progressive de l'activité enzymatique (PFase et CMCase) a été observée au fil du temps pour les trois souches étudiées et arrive à l'optimum au bout de 78h

d'incubation avant de diminuer à nouveau.

- ➢ Pour l'activité CMCase, que les souches *Aspergillus niger* et *Trichoderma longibrachiatum* semblent avoir une activité plus élevée atteignant un optimum d'activité de (29,78±0,15 U/gds et 24,94±0,2 U/gds) respectivement après 78 heures d'incubation par rapport à *Zymomonas mobilis*.
- ➢ Pour l'activité FPase, la souche *Aspergillus niger* présente une activité significativement plus élevée (23,12±0,1 U/gds) après 78 heures d'incubation, tandis qu'*Trichoderma longibrachiatum* et *Zymomonas mobilis* ont des activités similaires.

En résumé, l'activité enzymatique sur papier filtre (PFase) est plus élevée chez *Aspergillus niger* par rapport aux autres souches. De plus *Aspergillus niger* et *Trichoderma longibrachiatum* présentent une activité enzymatique d'endoglucanase CMCase plus élevée par rapport à Zymomonas mobilis. l'*Aspergillus niger* est connu comme un fort producteur d'enzymes cellulases dans beaucoup des travaux comme ce de Namita Bansal (Bansal et *al*., 2012) dont l'activité enzymatique PFase et CMCase) est de l'ordre respectivement de 16.8 ± 0.15 et 310.6 ± 3.0 U/gds utilisant Son de blé comme source de matière. Un autre travail utilisant le substrat d'un résidu agricole (Les enveloppes de soja) (Salihu et *al*., 2015) a montré une activité enzymatique PFase et CMCase moins importante qui est de l'ordre respectivement 6.20 ± 0.13 et 9.91 ± 0.04 U/gds après 96 heures d'incubation. Ces résultats suggèrent, d'une part des capacités enzymatiques spécifiques de chaque souche, et d'autre part le type de substrat lignocellulosique peut influencé l'activité enzymatique de la souche microbienne. Ceci peut être donc crucial pour la dégradation de divers substrats de BLC.

III.3.1.1 Effet de la température sur la production d'enzymes

Le graphique la **Figure III.9**, présente l'activité PFase mesurée en unités par gramme de matière sèche (U/gds) pour les trois souches microbiennes testées (*Aspergillus niger* et *Trichoderma longibrachiatum* à quatre températures différentes (22 °C, 30 °C, 37 °C, et 45 °C) :

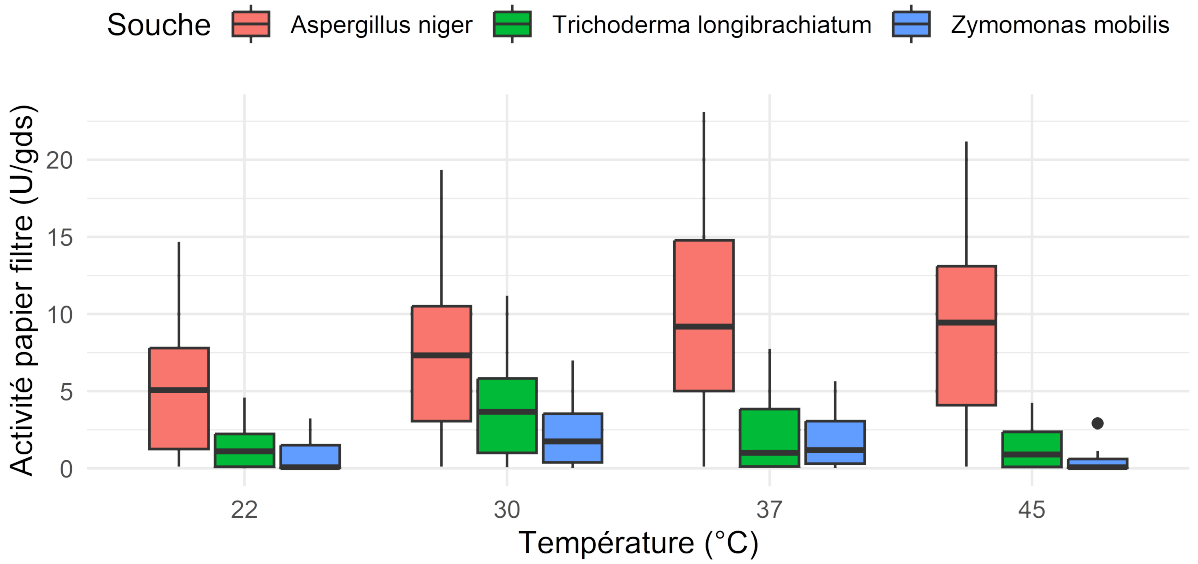


FIGURE III.9 . Effet de la température sur l'activité enzymatique dans différentes souches

A partir de ces résultats, on a constaté que l'activité enzymatique PFase chez *Aspergillus niger* semble maximale à 37 °C et minimale à 22 °C. Chez *Trichoderma longibrachiatum*, Pour les deux autres souches *Trichoderma longibrachiatum* et *Zymomonas mobilis* , l'activité enzymatique semble augmenter progressivement avec la température jusqu'au optimum à 30°C avant de diminuer.

L'analyse des résultats obtenus nous permet d'observer que l'activité PFase est optimale chez *Aspergillus niger* et *Trichoderma longibrachiatum* à des températures respectives de 37 °C et 30 °C. La plupart des études similaires portant sur la bioconversion de la BLC ont trouvé des températures optimales pour l'activité microbienne entre 28 et 30 °C pour *Aspergillus niger* (Kang et *al.*, 2004; Qian et *al.*, 2012; Rodríguez-Fernández et *al.*, 2011), 30 °C pour les espèces de Trichoderma (Chahal, 1985; Guoweia et *al.*, 2011). Ces résultats soulignent l'importance de la température dans la régulation de l'activité enzymatique, ce qui pourrait avoir des implications pratiques dans les applications industrielles.

III.3.1.2 Effet du pH sur la production d'enzymes

Le graphique de la **Figure III.10** représente l'influence du pH sur l'activité enzymatique (PFase) : L'analyse des résultats nous permet d'observer que l'activité PFase est optimale pour *Aspergillus niger* et *Trichoderma longibrachiatum* à des pH respectifs de 4 et 6.

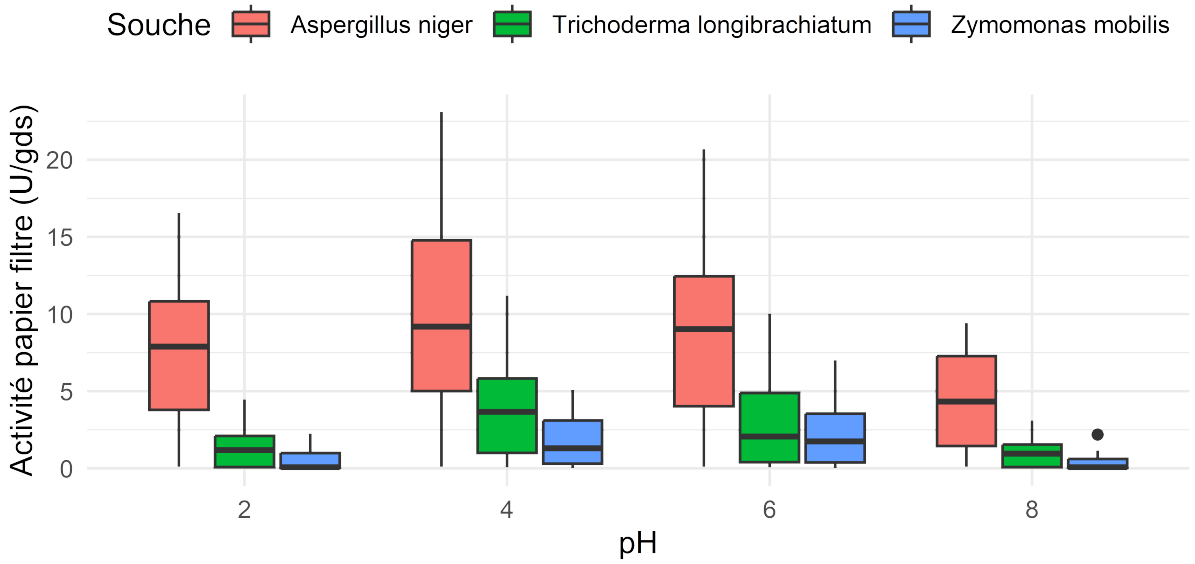


FIGURE III.10 . Effet du pH sur la production d'enzymes

L'influence du pH sur l'activité enzymatique a révélé des optima différents pour *Aspergillus niger* et *Trichoderma longibrachiatum*, observés dans une plage de pH entre 4 et 6. En revanche, à un pH de 2, l'activité enzymatique était faible. Ces résultats suggèrent que des conditions de pH entre 4 et 6 pourraient être considérées comme favorables pour optimiser l'activité enzymatique. Ces conclusions sont cohérentes avec d'autres études démontrant que des niveaux significatifs de cellulases peuvent être produits sur une plage de pH de 3 à 8. Par exemple, Namita Bansal a travaillé sur divers résidus agricoles et ménagers traités par *Aspergillus niger* et a rapporté des résultats presque similaires (Bansal et *al.*, 2012). De même, une étude menée par Ajay Kumar Pandey et son équipe sur le son de blé en tant que substrat a donné un rendement maximal en cellulase de 380,0 $\pm$ 1,72 U/gds à un pH de 4,8 (Pandey and Negi, 2020). La corrélation négative entre la diminution du pH et l'activité enzymatique de la cellulase pourrait être attribuée à la formation de métabolites acides pendant le processus de bioconversion (Molla et *al.*, 2004; Rahmani et *al.*, 2022).

III.3.1.3 Effet du taux d'inoculum sur la production d'enzymes

Le graphique de la **Figure III.11** représente l'influence du taux d'inoculum sur l'activité enzymatique (PFase) :

➢ En ce qui concerne l'activité PFase, nous avons remarqué qu'il y a une augmentation de l'activité enzymatique avec l'augmentation du taux d'inoculation. Il est également no-

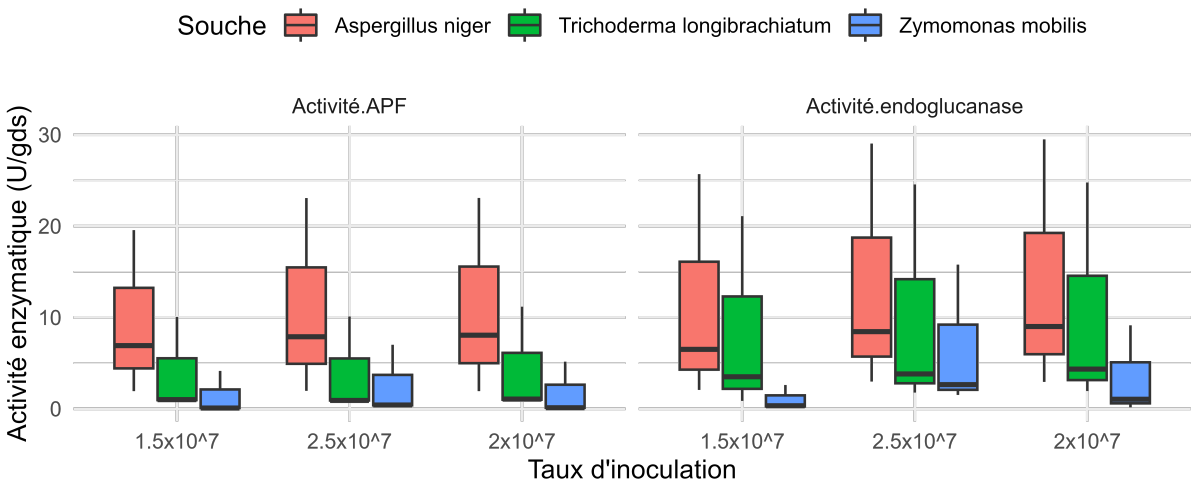


FIGURE III.11 . Effet du taux d'inoculum sur la production d'enzymes

table que, indépendamment du taux d'inoculation, *Aspergillus niger* a montré une activité PFase globalement plus élevée que les autres souches. *Trichoderma longibrachiatum* a présenté une activité PFase modérée, tandis que *Zymomonas mobilis* affiche la plus faible activité PFase.

➢ *Trichoderma longibrachiatum* a montré généralement une activité endoglucanase CMCase plus élevée par rapport aux autres souches, surtout à des taux d'inoculation plus élevés. *Aspergillus niger* et *Zymomonas mobilis* ont des niveaux d'activité CMCase comparables, avec certaines variations en fonction du taux d'inoculation.

III.3.1.4 Analyse statistique

L'activité endoglucanase "CMCase" semble élevée par rapport à l'activité papier filtre "PFase" (**Figure III.12**) chez les deux espèces des champignons testées. Pour comparer statistiquement les résultats obtenus, le **Tableau III.1** présente les résultats du test d'Anova. L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée pour évaluer l'impact du type d'activité enzymatique (papier filtre ou endoglucanase) et de la souche (*Aspergillus niger et Trichoderma longibrachiatum*) sur la production des enzymes. Les résultats indiquent des différences significatives dans l'activité en fonction du type d'activité enzymatique (Pr=6.18×10^{-7}, $p < 0.001$) et de la souche (Pr=9.39×10^{-9}, $p < 0.001$). Cela suggère que les moyennes d'activité sont différentes entre les types d'activité ainsi qu'entre les souches.

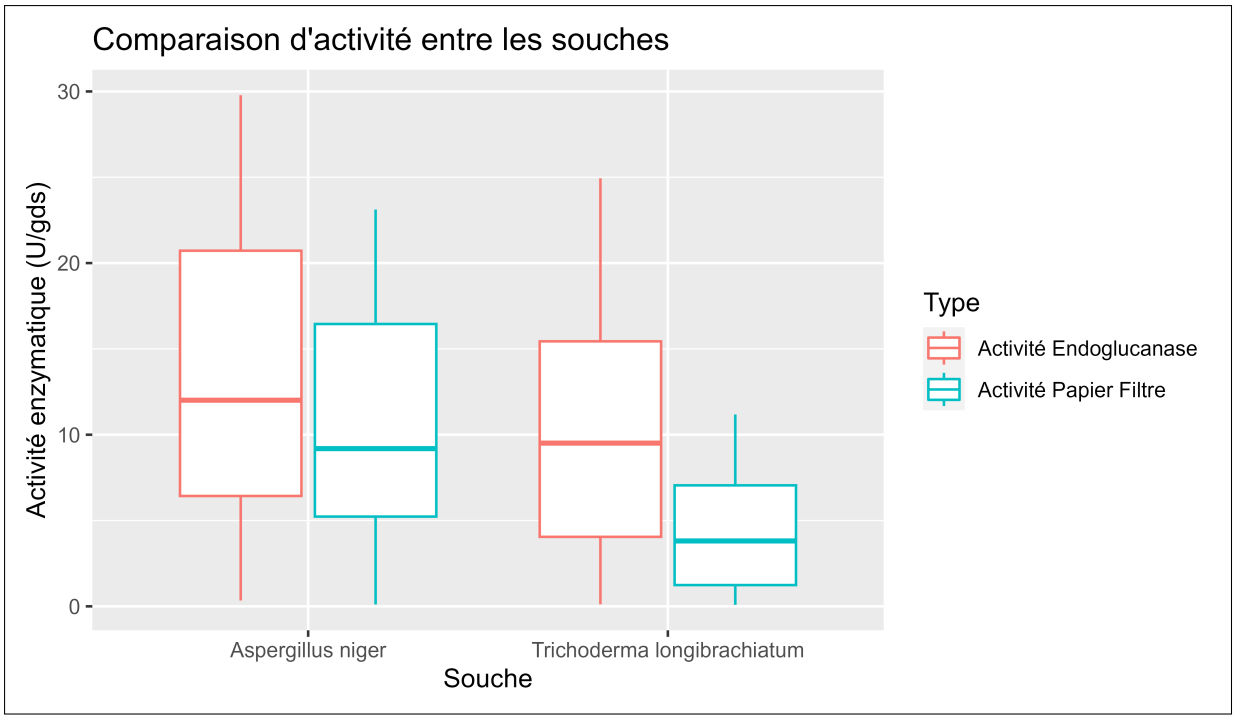


FIGURE III.12 . Comparaison de l'activité "CMCase" et "PFase"

Concernant l'étude de l'effet des facteurs tels que la température, le pH et le taux d'inoculation sur l'activité enzymatique, nous avons réalisé un test d'analyse de variance (ANOVA) afin de déterminer la signification des résultats obtenus. En se basant sur les résultats statistiques du test ANOVA présentés dans le **Tableau III.2**, nous avons formulé les conclusions suivantes :

TABLEAU III.1 . Comparaison statistique par "Test d'Anova" de l'effet du type d'activité enzymatique et le type de la souche utilisée sur la production des enzymes.

Source	**ddl**	**Somme des carrés**	**Moyenne des carrés**	**F**	**Pr(>F)**
Type	1	1399	1398.9	25.974	6.18e-07***
Souche	1	1881	1881.3	34.931	9.39e-09***
Type :Souche	1	168	168.1	3.122	0.0783

Signif. codes :'***' 0.001

TABLEAU III.2 . Comparaison statistique par "Test d'Anova" de l'effet des facteurs cinétiques sur la production des enzymes.

Source	**ddl**	**Somme des carrés**	**Moyenne des carrés**	**Valeur F**	**Pr(>F)**
Température	1	14.4	14.4	0.743	0.391
pH	3	24.17	8.0567	0.4231	0.735383
Taux d'inoculation	2	4.1	2.07	0.042	0.9585

Signif. codes : '***' 0.001

➢ Pour la variable Température, la valeur F est de 0.743 avec une Pr(>F) de 0.391, suggérant

ainsi que la Température n'a pas un impact significatif.

- ➢ Pour la variable pH, la valeur F est de 0.4231 avec une Pr(>F) de 0.735383, indiquant également une absence d'impact significatif.
- ➢ Pour la variable Taux d'inoculation, la valeur F est de 0.042 avec une Pr(>F) de 0.9585, confirmant l'absence d'impact significatif.

En résumé, l'analyse de la variance (ANOVA) révèle que la "souche" est le facteur le plus significatif influençant l'activité enzymatique, confirmant l'importance du choix de la souche appropriée pour des applications spécifiques. D'autres facteurs tels que la température, le pH et la concentration d'inoculum ne semblent pas influencer de manière significative l'activité enzymatique dans les conditions testées.

Cette optimisation pourrait être davantage améliorée grâce à des prétraitements de substrat, qui jouent un rôle crucial dans la modification de la structure complexe de la biomasse lignocellulosique. Des études récentes ont montré que le prétraitement alcalin, tel que décrit par Bendaoud et al (Bendaoud et *al*., 2023), et le prétraitement acide, comme rapporté par la même équipe, sont des approches prometteuses pour améliorer l'accessibilité des enzymes aux composants cellulaires. De plus, les prétraitements biologiques, tels que ceux étudiés par Rani et al (Rani and Dhoble, 2023), Li et al (Li et *al*., 2022), Benaddou et al (Benaddou et *al*., 2023a), et Benaddou et al (Benaddou et *al*., 2023b), ont également montré des résultats significatifs en termes d'amélioration de l'efficacité enzymatique. Ces approches diverses offrent des perspectives intéressantes pour l'amélioration continue des processus de bioconversion lignocellulosique, contribuant au développement durable et à la transition vers une économie plus respectueuse de l'environnement.

III.3.2 Production de bioéthanol

III.3.2.1 Dosage des sucres et des composés phénoliques

Après prétraitement physico-chimique :

le **Tableau III.3** présente les résultats de l'analyse de la composition chimique après l'hydrolyse physico-chimique :

TABLEAU III.3 . Dosage des sucres et des composés phénoliques dans le substrat lignocellulosiques après les traitements physico-chimiques

Composants de sous-produits lignocellulosiques (g/l)	Concentration initiale	Prétraitement par Vapeur	Hydrolyse acide	Détoxification
Glucose	5.29	6.57 ± 0.02	11.68 ± 0.05	11.68 ± 0.05
Xylose	3.41	4.27 ± 0.02	4.75 ± 0.02	4.75 ± 0.02
Mannose	1.02	1.12 ± 0.02	2.39 ± 0.02	2.39 ± 0.02
Galactose	0.65	1.29 ± 0.04	1.93 ± 0.04	1.93 ± 0.04
Cellulose	11.37	5.14 ± 0.12	1.24 ± 0.03	1.24 ± 0.03
Hémicelluloses	5.73	4.36 ± 0.13	0.41 ± 0.02	0.41 ± 0.02
Lignines	4.71	4.7	1.09	1.09
Sucres Totaux	25.19	-	-	-
Phénoliques Totaux	3.68	5.14 ± 0.03	14.25 ± 0.03	1.86 ± 0.02

Ces résultats ont révélé initialement, des concentrations variables des monosaccharides (glucose, xylose, mannose, galactose). Après les prétraitement par vapeur et l'hydrolyse acide, ces concentrations ont montré des évolutions significatives. Notamment, une augmentation progressive des concentrations de glucose et d'autres sucres simples a été observée, suggérant une libération de ces composés à partir de substrats plus complexes. Parallèlement, les concentrations de cellulose et d'hémicellulose ont diminué considérablement après les traitements, soulignant une dégradation importante de ces polysaccharides. En revanche, les lignines ont montré une relative stabilité après l'hydrolyse acide, indiquant une certaine résistance à ces traitements.Les composés phénoliques totaux ont montré une forte augmentation après l'hydrolyse acide et une légère augmentation suite à l'application d'un prétraitement à la vapeur. Et le taux des composés phénoliques après la détoxication est diminué de plus de 80% (de 14.25 à 1.86 g/l).

Après traitement enzymatique :

le **Tableau III.4** présente les résultats de l'analyse de la composition chimique après l'hydrolyse enzymatique :

Ces résultats ont révélé des variations de concentration des différents composants du milieu de culture après différents traitements. Initialement, des concentrations différentes de phénoliques totaux, sucres totaux, lignines, hémicelluloses, cellulose, galactose, mannose, xylose et glucose étaient présentes. Après le prétraitement par vapeur et d'hydrolyse acide, on observe des changements significatifs dans les concentrations de divers composants. Par la suite, les

traitements enzymatiques ont entraîné des variations supplémentaires dans les concentrations de ces composants. Notamment, les concentrations de phénoliques totaux ont considérablement augmenté après l'hydrolyse acide, mais ont diminué après les traitements enzymatiques. Les sucres totaux ont également montré des variations après les différents traitements, avec des augmentations observées dans certains cas et des diminutions dans d'autres. Les lignines, hémicelluloses et cellulose ont été significativement dégradées après les traitements enzymatiques. Les concentrations de monosaccharides tels que galactose, mannose, xylose et glucose ont également été affectées par les traitements, montrant des variations cohérentes avec les processus de dégradation et de conversion des polysaccharides.

TABLEAU III.4 . Dosage des sucres et des composés phénoliques dans le substrat lignocellulosiques après traitement enzymatiques chez les trois souches microbiennes étudiées

	Concentration initiale	**Traitement à vapeur et Hydrolyse acide**	**Traitement enzymatique**			**Traitement enzymatique sans hydrolyse physico-chimique**		
			A n	**Z m**	**Tl**	**A n**	**Z m**	**Tl**
Phénoliques totaux	3.68	14.25 ± 0.03	-	-	-	-	5.68	5.68
Sucres totaux	25.19	-	-	-	-	27.99	28.64	27.28
Lignines	4.71	1.09	-	-	-	2.91 ± 1.02	2.22 ± 0.02	2.07 ± 0.03
Hémicelluloses	5.73	0	0	0	0	3.51 ± 1.05	4.02 ± 0.08	3.56 ± 0.12
Cellulose	11.37	0	0	0	0	4.12 ± 0.03	1.79 ± 0.02	1.47 ± 0.02
Galactose	0.65	1.29 ± 0.04	1.93 ± 0.04	1.75 ± 0.02	1.68 ± 0.03	1.11 ± 0.02	0.85 ± 0.02	0.26 ± 0.03
Mannose	1.02	2.32 ± 0.02	3.46 ± 0.1	2.94 ± 0.05	2.35 ± 0.06	1.25 ± 0.02	1.03 ± 0.03	0.93 ± 0.05
Xylose	3.41	4.25 ± 0.02	5.57 ± 0.04	5.15 ± 0.03	5.05 ± 0.04	3.37 ± 0.06	2.78 ± 0.02	2.15 ± 0.03
Glucose	5.29	11.68 ± 0.04	13.97 ± 0.05	9.87 ± 0.14	9.52 ± 0.03	9.18 ± 0.08	8.96 ± 0.03	8.56

III.3.2.2 Rendement en éthanol

La procédure de traitement de notre substrat des sous-produits lignocellulosiques a permis de libérer les monosaccharides (glucose, xylose...) et a provoqué la production de composés phénoliques. Le but principal du traitement des sous-produits de la biomasse était donc la production optimale de bioéthanol. Pour ce faire, cela demande l'utilisation de tous les sucres monosaccharides issus de l'hydrolyse de la BLC (cellulose et hémicellulose). En plus des sucres, les composés phénoliques sont présents après cette hydrolyse. De plus, ces composés ont des effets toxiques sur le processus de fermentation. Le problème qui se pose est de trouver les microorganismes capables de croître dans ces conditions pour une production maximale d'éthanol.

Évaluation comparative de la saccharification et de la fermentation selon les souches et le prétraitement appliqué :

Des tests préliminaires ont montré que les souches sont capables de se multiplier dans le milieu contenant la BLC comme source de carbone et d'énergie sans aucun traitement. Ainsi elles ont été testées pour la production d'éthanol. Une comparaison a été aussi effectuée. Les résultats sont présentés dans la **Figure III.13**. Après la fermentation pendant 48 h *Aspergillus niger (A.n)* présente le rendement en éthanol le plus élevé avec un taux de 5,95% (g/g), suivi de *Trichoderma longibrachiatum (T.l)* avec 1,48 % (g/g) et *Zymomonas mobilis* (Z.m) avec 1,27 % (g/g). Ces résultats suggèrent que Z.m est le plus efficace dans la conversion du glucose en éthanol, tandis que A.n et T.l ont des rendements plus faibles.

Cependant, malgré le rendement en éthanol observé chez (Z.m) par rapport aux autres souches testées, celui-ci reste relativement faible. Z.m est reconnue comme un producteur d'éthanol efficace à partir de substrats tels que le glucose, le fructose et le galactose (Rogers et *al*., 2007; Panesar et *al*., 2006), mais elle est incapable de fermenter les sucres C5 tels que le xylose et l'arabinose, qui sont aussi des composants de lignocellulose (Doran-Peterson et *al*., 2008). Ainsi, d'une part, le choix du substrat utilisé dans cette étude et, d'autre part, le non-prétraitement de ce substrat pour décomposer le complexe lignocellulosique pourraient influencer le rendement en éthanol produit par les souches microbiennes testées. De plus, ce faible rendement peut s'expliquer par l'incapacité de Z.m à tolérer les inhibiteurs toxiques présents dans les hydrolysats de lignocellulose, tels que les composés phénoliques, pendant la fermentation.

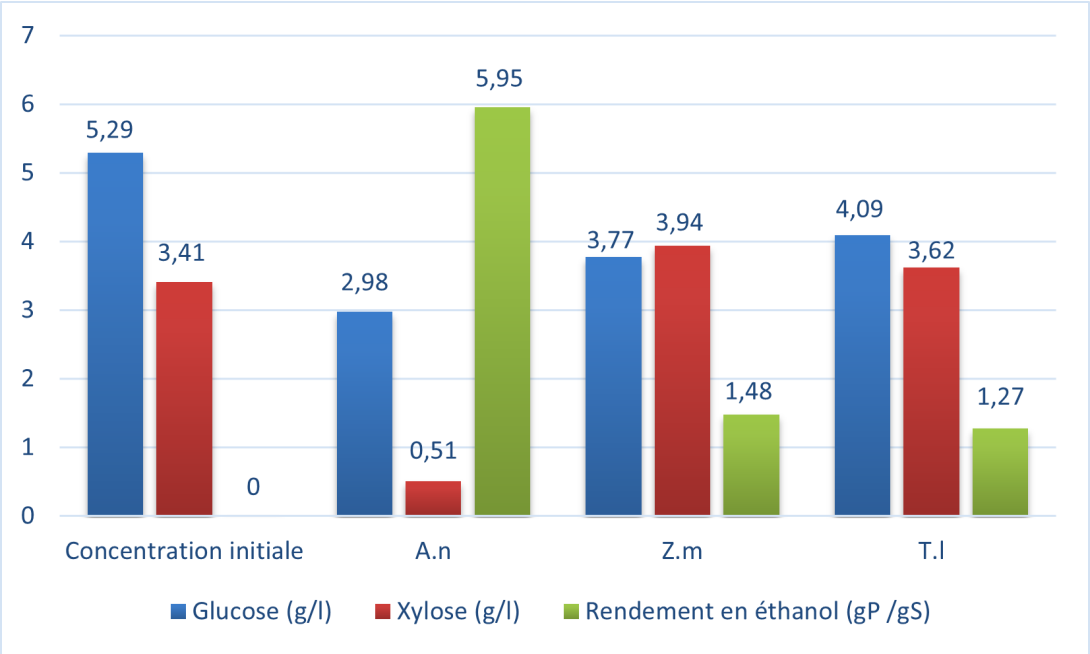


FIGURE III.13 . Évaluation de Fermentation éthanolique sur substrats de BLC Non Traités par diverses Souches étudiées.

En appliquant un traitement préalable par explosion à vapeur (**Figure III.14**), A.n a le rendement d'éthanol le plus élevé avec taux de 6,97 % (g/g), suivi de Z.m avec 3 % (g/g) et de T.l avec 2,47 % (g/g).

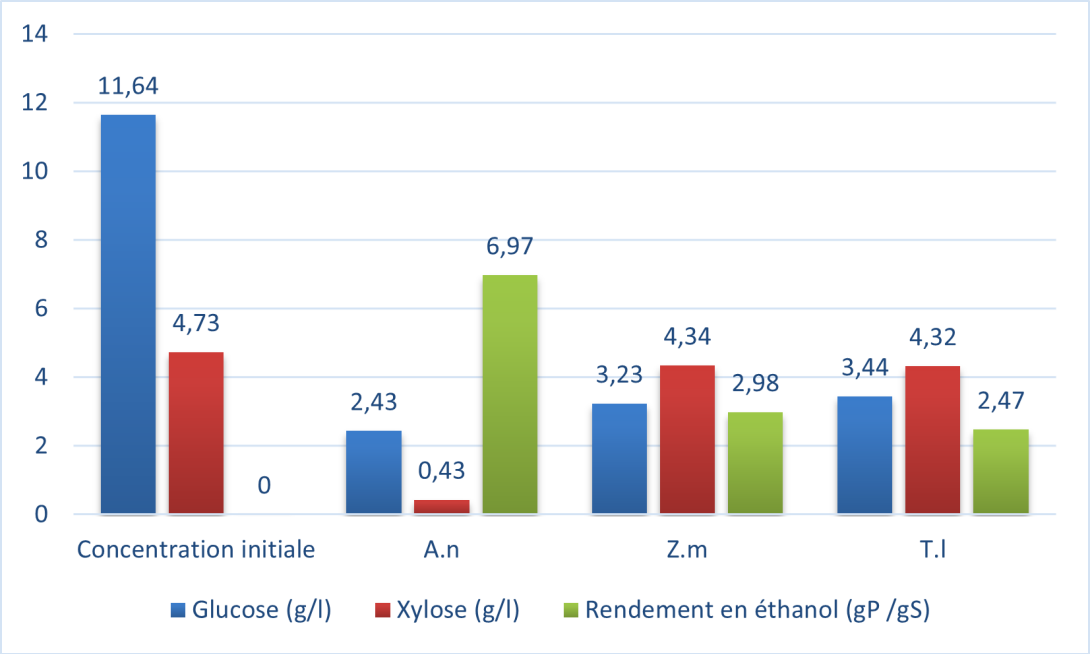


FIGURE III.14 . Évaluation de Fermentation éthanolique sur substrats prétraités par explosion à vapeur par diverses Souches étudiées.

Lors de l'application d'un traitement physico-chimique combiné avec un traitement enzymatique (**Figure III.15**), le rendement en éthanol le plus élevé a été obtenu chez A.n avec une teneur de 10,78 % (g/g), suivi par Z.m et T.l avec des taux respectifs de 4,27 % (g/g) et 3,49 % (g/g).

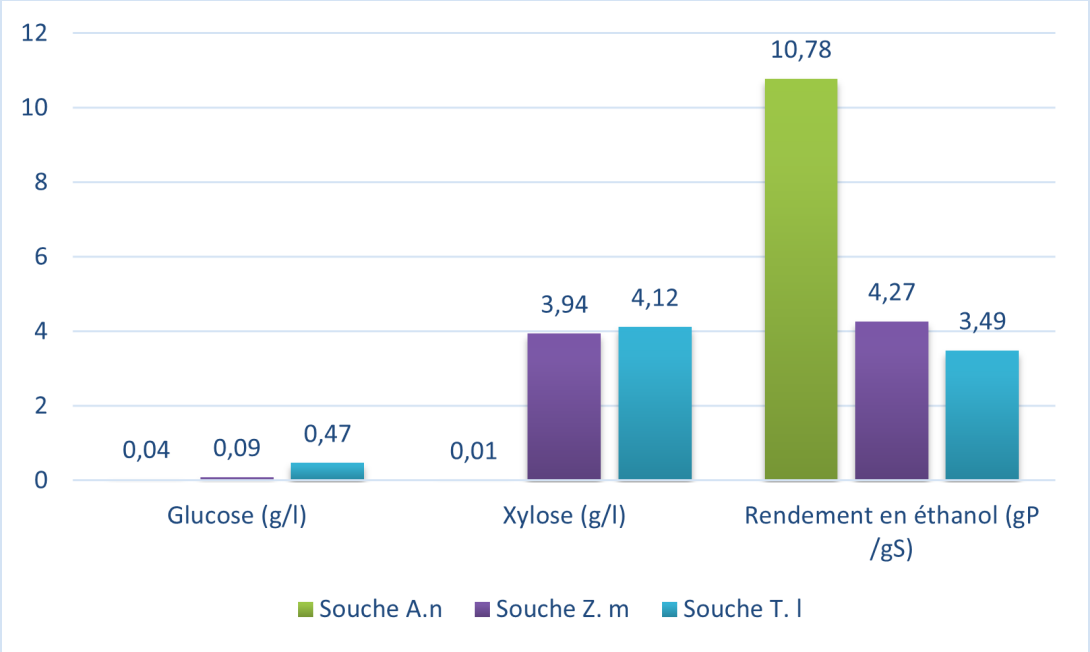


FIGURE III.15 . Évaluation de Fermentation éthanolique sur substrats prétraités (physico-chimique et enzymatique) par diverses Souches étudiées.

Nous pouvons observer, d'une part, que le rendement élevé en éthanol a été obtenu lorsque la fermentation est précédée par un prétraitement préalable par rapport à un substrat non prétraité. D'autre part, le rendement en éthanol est élevé après un prétraitement combiné (physicochimique et enzymatique) par rapport à un prétraitement avec explosion à la vapeur. On constate également que le rendement en éthanol et la concentration en monosaccharides libérés (glucose et xylose) sont observés chez *A. niger* en comparaison avec les autres souches testées.

À partir des résultats obtenus, on a déduit que l'*Aspergillus niger* est la souche qui présente une activité enzymatique significative par rapport aux autres souches microbiennes testées dans cette étude, et ainsi par son rendement en éthanol relativement élevé. L'efficacité observée de la souche d'*Aspergillus niger* en termes de prétraitement, de saccharification de la BLC et également dans la fermentation pour la production de bioéthanol suggère qu'elle pourrait être choisie pour la valorisation énergétique de notre substrat de sous-produits lignocellulosiques en vue de la production de bioéthanol.

Cinétique de la production d'éthanol par *Aspergillus niger* :

La **Figure III.16** présente les résultats de la production d'éthanol par *Aspergillus niger* : Initia-

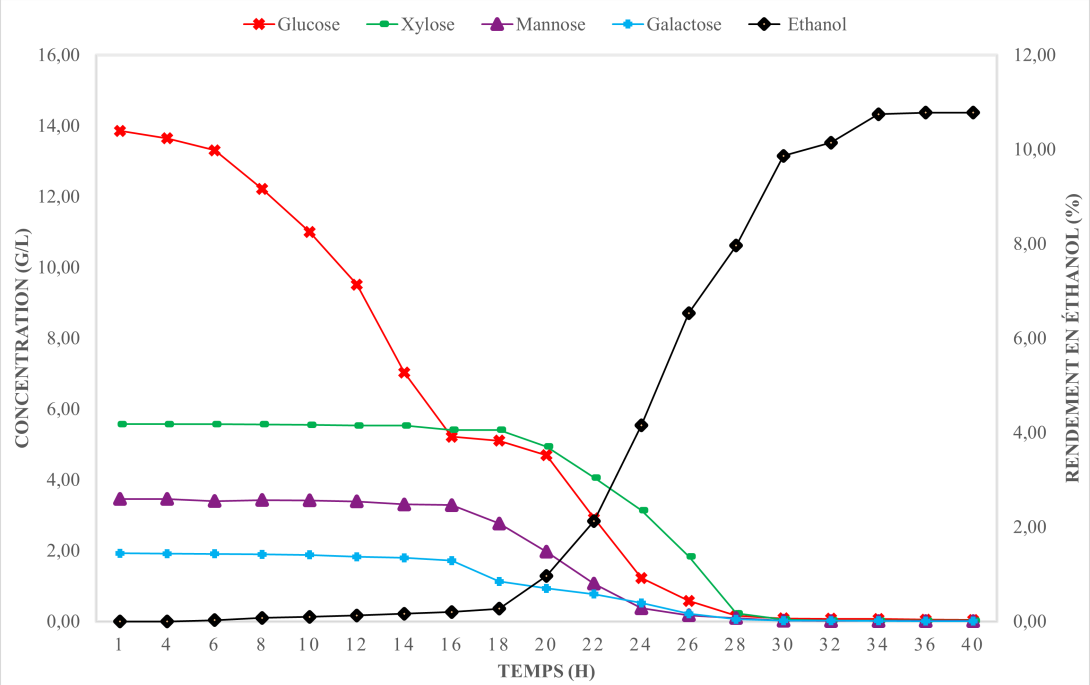


FIGURE III.16 . Cinétique de la production d'éthanol par *Aspergillus niger*

lement, une concentration élevée de glucose à 13,86 g/L diminue progressivement, suggérant une utilisation préférentielle de ce sucre comme substrat pour la production d'éthanol. Cette diminution est accompagnée d'une légère diminution des concentrations de xylose, mannose et galactose, indiquant leur utilisation également pour la production d'éthanol, bien que leur contribution soit moindre par rapport au glucose.

La production d'éthanol commence après environ 6 heures et augmente de manière significative par la suite. Son pic de production est atteint à 10,78 % (g/g) après 40 heures. Cependant, il est important de noter que la production d'éthanol à partir de substrats autres que le glucose, tels que le xylose, le mannose et le galactose, bien que présente, reste moins importante, ce qui suggère une préférence des micro-organismes pour le glucose en tant que substrat principal.

En plus de son rôle dans la production d'éthanol, la consommation de glucose sert également à la croissance cellulaire (**Figure III.17**). L'analyse de ce graphique a montré une évolution significative des concentrations de protéines d'organisme unicellulaire et de glucose au fil du temps. Au fur et à mesure que le temps progresse, la concentration en biomasse augmente de manière progressive, atteignant un pic à 15,94 g/L à partir de la 26^{e} heure, avant de se stabiliser. Cette croissance cellulaire continue suggère une utilisation efficace des ressources du

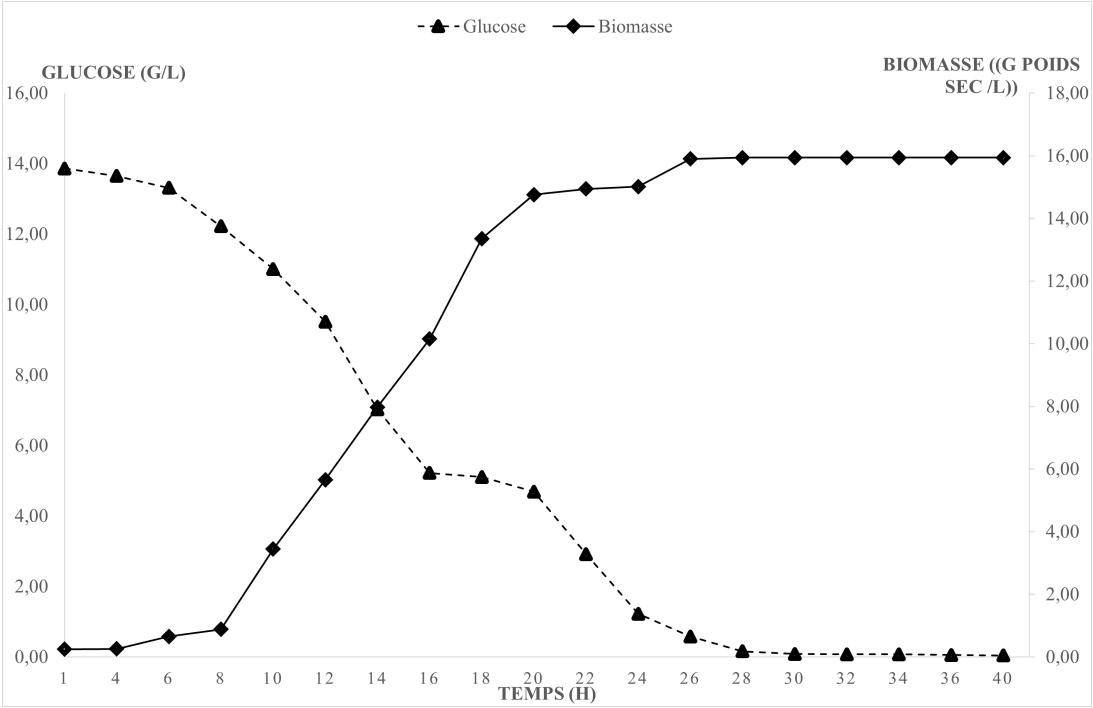


FIGURE III.17 . Évolution de la croissance cellulaire au cours de la fermentation éthanolique chez *Aspergillus niger*

milieu de culture. Parallèlement, la concentration en glucose diminue rapidement, témoignant d'une consommation active par les cellules pour leur croissance et leur métabolisme. Cette utilisation efficace des ressources pourrait être cruciale dans des contextes biotechnologiques pour la production de biomasse ou d'autres produits d'intérêt.

Évolution de la production d'éthanol chez la souche d*Aspergillus niger* immobilisée :

Les résultats de la production d'éthanol par la souche d*Aspergillus niger* immobilisée (**Figure III.18**) durant plusieurs cycles (**Figure III.19**) ont révélé une augmentation du taux des sucres passant de 0,09 g/l lors du premier cycle à 12,14 g/l au sixième cycle. Cette hausse suggère une accumulation continue de sucres à cause de la baisse de leurs consommation par la souche fongique. De même, le rendement en éthanol diminue aussi de manière significative, passant de 11,34 % au premier cycle à seulement 5,02 % au sixième cycle. Cette diminution indique une baisse de l'efficacité de la conversion des sucres en éthanol à mesure que les cycles progressent. De plus, la concentration de protéines d'organismes unicellulaires dans le milieu de culture diminue également au fil des cycles, passant de 17,56 g poids sec /l au premier cycle à seulement 3,86 g/l au sixième cycle ce qui signifie aussi une diminution de la biomasse cellulaire.

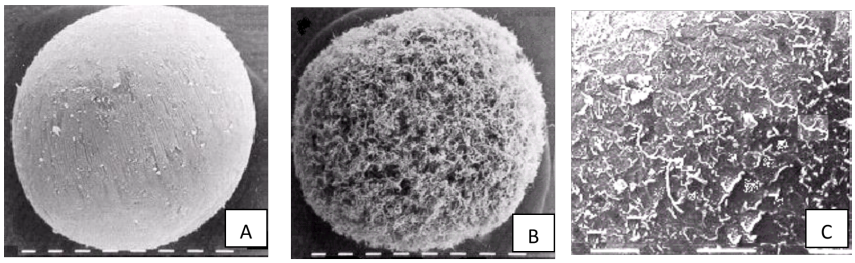


FIGURE III.18 . Photographie électronique d'une bulle d'alginate de calcium contenant le concentré d'*Aspergillus niger* immobilisé. A) Après 1 cycle, B) Après 6 cycles. C) Détail de la surface de la perle b. (Wild MPS 45 / MPS 51 S.) Curseur = 0,1 mm.



FIGURE III.19 . Rendement en éthanol et en biomasse chez la souche d'*Aspergillus niger* immobilisée pendant plusieurs cycles

Les résultats observés peuvent être expliqués par plusieurs facteurs :

- Certains sous-produits, tels que les composés phénoliques, peuvent agir comme des inhibiteurs de la fermentation. Leur accumulation dans le milieu de culture peut entraîner une diminution de l'efficacité de la fermentation, ralentissant ainsi la consommation des sucres restants et par conséquent entraînant une réduction de l'efficacité à convertir les sucres en éthanol par la souche d'*Aspergillus niger*. Bien que les sucres soient disponibles, leur utilisation par la souche peut être retardée en raison de la présence de ces inhibiteurs, contribuant ainsi à leur accumulation.
- la diminution de la concentration de protéines d'organismes unicellulaires dans le milieu de culture suggère une diminution de la biomasse cellulaire. Cela pourrait être dû à une variété de facteurs, y compris une accumulation de métabolites toxiques ou des conditions

environnementales défavorables telles que des variations de pH ou de température.

Malgré l'utilisation de ce procédé, l'exploitation de la souche immobilisée pourrait être rentable sur le plan économique car elle réduit les coûts d'entretien et de reculture des souches microbiennes. Cependant, il sera nécessaire d'optimiser les différents paramètres affectant la fermentation afin d'optimiser la production d'éthanol. Cela pourrait inclure l'optimisation des paramètres de fermentation tels que la concentration en substrat, le contrôle des conditions environnementales (Ph, température...), et le développement de stratégies de régulation métabolique pour améliorer l'efficacité de la conversion des sucres en éthanol tout en maintenant la viabilité et la productivité de la souche d'*Aspergillus niger*.

III.3.3 Etude économique de production de bioéthanol à l'échelle pilote

III.3.3.1 Matière première pour la production de bioéthanol

Supposons que nous utilisons 100 tonnes d'un mélange de résidus forestiers et de sous-produits médicinaux et aromatiques comme matière première. Nos études ont montré les teneurs suivantes en cellulose et hémicellulose :

— Teneur en cellulose : 45,8 % (donc 45,8 tonnes de cellulose)

— Teneur en hémicellulose : 28 % (28 tonnes d'hémicellulose)

— Teneur en lignine : 17 % (17 tonnes de lignine)

III.3.3.2 Simulation du rendement de prétraitement

On choisit le prétraitement acide comme méthode pour décomposer la structure de notre substrat lignocellulosique.
Rendement de déstructuration : 94,11 % de la cellulose et 92,78 % de l'hémicellulose sont accessibles après le prétraitement.

— Cellulose disponible : 45,8 tonnes × 94,11 % = 43,1 tonnes.

— Hémicellulose disponible : 28 tonnes × 92,78 % = 25,9 tonnes

III.3.3.3 Simulation du rendement de l'hydrolyse enzymatique

Dans cette étape, les enzymes transforment la cellulose et l'hémicellulose en sucres fermentescibles (principalement glucose et xylose).

— Rendement de conversion de la cellulose et l'hémicellulose en sucres fermentescibles : 85 %

— sucres fermentescibles produits : (43,1 + 25,9 tonnes) × 85 % = 58,65 tonnes

III.3.3.4 Fermentation : simulation du rendement global de production d'éthanol

La fermentation transforme les sucres fermentescibles en éthanol. en utilisant la souche d'*Aspergillus niger* le rendement en éthanol est 10,78 %

Le rendement global d'éthanol serait donc :

Éthanol total produit : 58,65 tonnes × 10,78 % = 6,32 tonnes d'éthanol.

III.3.3.5 Évaluation énergétique

Le pouvoir calorifique de l'éthanol est d'environ 26,8 MJ/kg.

Énergie totale produite :

$$6,32\,\text{tonnes} \times 26,8\,\text{MJ/kg} = 169,4\,\text{GJ}$$

III.3.3.6 simulation du Coût de production de l'éthanol

Les coûts doivent inclure :

— Matière première (prix par tonne de la matière première)

— Coût du prétraitement

— Coût des enzymes (hydrolyse) : Si des cellulases sont utilisées pour hydrolyser les matières, leur prix doit être estimé.

— Fermentation (main-d'œuvre, équipements)

— Distillation (séparation de l'éthanol)

— Énergie (coût de l'électricité, etc.)

— Gestion des sous-produits lignocellulosiques

Nous pouvons maintenant estimer les coûts de production.

a) **Coût de la matière première**

Prix de la matière première : environ 300 MAD/tonne.

Coût total de la matière première : 100 tonnes × 300 MAD/tonne = 3 0000 MAD.

b) **Coût du prétraitement**

Coût de l'équipement et de la technologie :

les réacteurs de prétraitement coûtent généralement entre 100 000 MAD et 50 0000 MAD

Coûts énergétiques :

Le processus de prétraitement acide nécessite souvent des températures élevées (autour de 120-200°C). Le coût énergétique pour chauffer 100 tonnes de substrat à cette température peut être important, en fonction du type d'énergie utilisée (gaz, électricité, vapeur).

Estimation : 5 0000 à 15 0000 MAD.

Coût de la main-d'œuvre :

Le prétraitement acide peut être automatisé, mais il nécessite une surveillance constante pour contrôler les conditions (température, pH, pression, etc.).

Estimation : 2 0000 à 10 0000 MAD (selon la durée et la complexité de l'opération).

Neutralisation et gestion des sous-produits :

Après le prétraitement, il peut être nécessaire de neutraliser l'acide résiduel. Ce processus nécessite des produits chimiques (comme du bicarbonate de soude ou de la chaux) et peut générer des coûts supplémentaires pour le traitement des eaux usées et la gestion des déchets.

Estimation : 1 0000 à 5 0000 MAD.

Estimation Totale :

En additionnant ces différents coûts pour 100 tonnes de substrat lignocellulosique :

- **Équipement** : 100 000 à 500 000 MAD
- **Énergie** : 50 000 à 150 000 MAD
- **Main-d'œuvre** : 20 000 à 100 000 MAD
- **Neutralisation et gestion des déchets** : 10 000 à 50 000 MAD

Coût total estimé : 180 000 à 800 000 MAD.

c) **Coût de l'hydrolyse enzymatique**

On calcule le coût des enzymes pour 100 tonnes de substrat en utilisant les prix des enzymes de **ASA Spezialenzyme GmbH**, qui sont environ 200 MAD/kg pour les achats en gros (25 kg)

Activité enzymatique : 29,78 U/gds

Unité d'enzymes nécessaires : 50 U par kg de substrat

Total des unités d'enzymes nécessaires :

$$100\,000\,\text{kg} \times 50\,\text{U/kg} = 5\,000\,000\,\text{U}$$

Masse d'enzyme nécessaire :

$$\text{Masse d'enzyme (kg)} = \frac{5\,000\,000\,\text{U}}{29\,780\,\text{U/kg}} \approx 168\,\text{kg}$$

Calcul du coût :

Si on utilise le prix en gros (200 MAD/kg) :

$$\text{Coût} = 168\,\text{kg} \times 200\,\text{MAD/kg} = 33600\mathit{MAD}$$

d) **Coût de la fermentation**

Équipement : Le prix des fermenteurs est d'environ 180 500 MAD (YoLong Brewtech).

Coût de l'inoculum (souche d'*Aspergillus niger*) : Coût de la souche : Les souches commerciales d'*Aspergillus niger* peuvent coûter entre 1 000 et 10 000 MAD par litre, en fonction de la pureté et de la qualité. Une fermentation de 100 tonnes pourrait nécessiter 10 à 100 litres de culture. Estimation : 10 000 à 100 000 MAD.

Coût énergétique de la fermentation : Les coûts énergétiques pour le chauffage, l'agitation et l'aération peuvent varier. On peut estimer entre 50 000 et 150 000 MAD pour un processus de fermentation.

Coût de la main-d'œuvre : Le coût de la main-d'œuvre pour la gestion du processus de fermentation peut également être significatif. Une estimation pourrait être de 20 000 à 100 000 MAD, selon la durée de la fermentation et le nombre de travailleurs nécessaires.

Coûts de distillation : On peut estimer environ 100 000 à 300 000 MAD.

Estimation Totale :

En additionnant tous ces coûts, on obtient une estimation totale pour 100 tonnes de substrat :

Coût total estimé : 360 000 à 850 0000 MAD

Le Coût total estimé est représenté dans le tableau suivant :

TABLEAU III.5 . Estimation des coûts pour la production de bioéthanol à partir de 100 tonnes de substrat

Élément de coût	**Estimation (MAD)**
Matière première	**30 000**
Prétraitement	
- Équipement	100 000 - 500 000
- Énergie	50 000 - 150 000
- Main-d'œuvre	20 000 - 100 000
- Neutralisation et gestion des déchets	10 000 - 50 000
Total prétraitement	**180 000 - 800 000**
Hydrolyse enzymatique	**33 600**
Fermentation	
- Équipement	180 500
- Inoculum (*Aspergillus niger*)	10 000 - 100 000
- Énergie pour la fermentation	50 000 - 150 000
- Main-d'œuvre pour la fermentation	20 000 - 100 000
- Distillation	100 000 - 300 000
Total fermentation	**360 000 - 850 000**
Coût total estimé	**603 600 - 1 713 600**

— **Coût par tonne d'éthanol**

Le coût total pour produire 6,32 tonnes de bioéthanol est d'environ 1 000 000 MAD.

— **Coût par tonne d'éthanol** : $1000000\,\text{MAD} \div 6,32\,\text{tonnes} \approx$ **158 227 MAD/ tonne**.

— **Coût par litre d'éthanol**

Sachant que la densité de l'éthanol est d'environ 0,789 kg/L, on peut convertir ce coût par tonne en coût par litre :

— **Coût par litre d'éthanol** : $158227\text{MAD} \div \left(\frac{1000\,\text{kg}}{0,789\,\text{kg/L}}\right) \approx 125\,\text{MAD/L}$.

Dans cet exemple, le coût approximatif de production du bioéthanol de 2e génération à partir de DF et des sous-produits DPAMs est d'environ **125 MAD/L**. Le prix des carburants fossiles, comme l'essence ou le diesel, varie en fonction des fluctuations du marché pétrolier. En 2024, le prix moyen du baril de pétrole brut est d'environ 80 à 90 USD (soit environ 800 à 900 MAD par baril). En convertissant ce coût en énergie, cela correspond à environ 9 à 10 MAD par litre de carburant fossile, en tenant compte des coûts de raffinage, de transport et des taxes.

Le bioéthanol a un pouvoir calorifique de 26,8 MJ/kg, alors que le diesel et l'essence sont légèrement plus élevés, autour de 35 à 45 MJ/kg. Bien que le bioéthanol produise moins d'éner-

gie par kilogramme que les carburants fossiles, il présente l'avantage d'être renouvelable et de réduire les émissions de gaz à effet de serre.

Le coût par litre d'éthanol produit (selon l'estimation donnée) serait considérablement plus élevé que celui des carburants fossiles en 2024. Toutefois, les subventions gouvernementales et les incitations fiscales pour les énergies renouvelables peuvent compenser cette différence de coût, rendant le bioéthanol plus compétitif sur certains marchés.

Le bioéthanol reste plus cher que les énergies fossiles en termes de coût. Cependant, ses avantages environnementaux et la possibilité de stabiliser les prix en réduisant la dépendance aux fluctuations du marché pétrolier en font une option intéressante, surtout avec le soutien de politiques publiques encourageant les énergies renouvelables.

III.4 Conclusion

Les résultats de cette étude soulignent l'importance de la sélection des souches microbiennes dans la production d'enzymes cellulolytiques, avec *Aspergillus niger* qui se distinguent par une activité enzymatique supérieure. Les conditions optimales de température et de pH varient selon les souches, soulignant la nécessité d'ajuster les conditions de culture en fonction de la souche sélectionnée. La corrélation positive entre le taux d'inoculum et l'activité enzymatique suggère l'impact substantiel de la quantité de microorganismes sur la production d'enzymes.

De plus, l'influence des prétraitements de substrat, tels que les méthodes alcalines, acides et biologiques, offre des perspectives prometteuses pour optimiser l'efficacité enzymatique. Ces approches diverses suscitent un intérêt particulier dans le contexte de la bioconversion lignocellulosique, avec des implications pratiques significatives pour des applications industrielles durables.

les analyses statistiques ont vérifié que la souche est le facteur le plus influent affectant l'activité enzymatique, soulignant le rôle crucial de la sélection de la souche appropriée pour des applications spécifiques. Cette compréhension approfondie des facteurs impactant l'activité enzymatique ouvre la voie à des stratégies d'optimisation plus précises et à des avancées dans le domaine de la bioconversion de la biomasse lignocellulosique.

Dans cette étude, nous avons évalué aussi le rendement en éthanol de différentes souches de micro-organismes, en analysant leur performances de saccharification et de la fermentation sur des substrats non traités ainsi que ceux prétraités par diverses méthodes. Nos résultats ont

démontré que la souche *Zymomonas mobilis* présente le rendement en éthanol le plus élevé parmi les souches étudiées lors de la fermentation sur substrats non traités, avec une concentration de 5,95 % après 48 heures. En revanche, la souche *Aspergillus niger* s'est avérée la plus efficace après un prétraitement par explosion à vapeur, avec un rendement en éthanol de 10,78 %. L'application d'un traitement physico-chimique combiné avec un traitement enzymatique a également montré des résultats similaires, avec *Aspergillus.niger* présentant le rendement le plus élevé.

L'analyse cinétique de la production d'éthanol par *Aspergillus niger* a révélé une utilisation préférentielle du glucose comme substrat principal, bien que d'autres sucres soient également métabolisés pour la production d'éthanol. De plus, l'observation de la croissance cellulaire au cours de la fermentation met en évidence une utilisation efficace des ressources du milieu de culture, avec une consommation significative de glucose pour la biomasse cellulaire.

En outre, la production d'éthanol par des souches immobilisées d'*Aspergillus niger* a montré des résultats intéressants en termes de rendement d'éthanol. Bien que nous ayons observé une baisse du rendement d'éthanol au fil des cycles, cela pourrait être économiquement avantageux à l'échelle industrielle.

En résumé, cette étude, d'une part contribue à améliorer la production des enzymes lignocellulolytiques en agissant sur l'optimisation des facteurs régulant l'activité enzymatique, et d'autre part cette étude a mis en lumière l'importance du choix de la souche microbienne et des méthodes de prétraitement dans la production d'éthanol à partir de substrats lignocellulosiques. Ces recherches ont des implications significatives pour la transition vers une économie respectueuse de l'environnement et la réalisation des objectifs de durabilité à long terme.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

La gestion et la valorisation des sous-produits végétaux solides constitue un enjeu majeur pour la durabilité environnementale et la transition vers une économie circulaire. Les résultats de ce présente travail a révélé que les sous-produits végétaux solides, générés par divers secteurs d'activité, sont caractérisés par leur grande diversité et leur quantité considérable. Malheureusement, bien que ces sous-produits possèdent un potentiel considérable en tant que ressources riches en biomasse lignocellulosique, ils restent largement sous-exploités et souvent négligés en raison de leur rentabilité limitée et de la nécessité d'un traitement approprié coûteux pour qu'ils puissent devenir rentables et apporter une réelle valeur ajoutée.

Les obstacles à l'investissement dans la valorisation des sous-produits végétaux pour la production de bioénergie ou de biomatériaux selon les acteurs sont multiples. Parmi eux, le manque de moyens pour le traitement des sous-produits et les revenus faibles des acteurs concernés sont prédominants. De plus, de nombreuses industries accusent un retard en termes d'innovation et d'adoption de pratiques favorisant l'économie circulaire et le développement durable. Cette inertie pose un défi majeur pour la transition vers un modèle plus respectueux de l'environnement.

Pourtant, les analyses chimiques ont démontré le potentiel énergétique des sous-produits végétaux, en particulier ceux provenant des résidus forestiers et des plantes médicinales et aromatiques. Ces résidus se distinguent par leur composition riche en cellulose, hémicelluloses et relativement dépourvus de lignine, offrant ainsi des opportunités pour la production de bioénergie et de biomatériaux. Cependant, leur exploitation efficace nécessite des prétraitements appropriés, qui doivent être à la fois économiquement viables et respectueux de l'environne-

ment.

Le prétraitement combiné (physico-chimique et biologique) émerge comme une option particulièrement prometteuse. En plus de son efficacité dans la conversion des polysaccharides en sucres simples fermentescibles, il se distingue par son caractère relativement non polluant, offrant ainsi une voie vers une valorisation plus durable des sous-produits végétaux. Cependant, son adoption à grande échelle nécessitera des investissements en recherche et développement ainsi que des incitations politiques pour encourager les industries à adopter cette approche.

Par ailleurs, le choix de la souche microbienne joue un rôle crucial dans la production d'éthanol à partir de substrats lignocellulosiques. dans ce travail, l'*Aspergillus niger* a montré des résultats intéressants en termes de rendement d'éthanol.Les avancées dans ce domaine offrent des perspectives prometteuses pour une production d'énergie renouvelable plus efficace et respectueuse de l'environnement. De plus, la production d'éthanol à partir de souches immobilisées offre des opportunités pour une exploitation économiquement viable des sous-produits végétaux à l'échelle industrielle.

Malgré les résultats intéressants obtenus dans ce travail, la recherche dans ce domaine doit se poursuivre. Voici quelques perspectives à explorer :

- ➢ Développement de technologies de prétraitement efficaces et durables : Poursuivre la recherche sur les méthodes de prétraitement combiné physico-chimique et biologique pour maximiser l'efficacité de conversion des polysaccharides en sucres fermentescibles tout en minimisant l'impact environnemental. Cela pourrait impliquer l'exploration de nouvelles techniques et l'optimisation des processus existants pour rendre la valorisation des sous-produits végétaux plus économiquement viable et écologiquement durable.
- ➢ Sensibilisation et éducation : Mettre en place des campagnes de sensibilisation pour informer les industries, les décideurs politiques et le grand public sur le potentiel des sous-produits végétaux solides en tant que ressources précieuses pour la production d'énergie renouvelable et de biomatériaux. Il est essentiel de souligner les avantages économiques, environnementaux et sociaux de leur valorisation, tout en soulignant les risques associés à leur sous-exploitation.
- ➢ Politiques incitatives et réglementations favorables : Encourager les gouvernements à élaborer des politiques et des réglementations qui favorisent l'adoption de pratiques de gestion des sous-produits végétaux plus durables. Cela pourrait inclure des incitations

financières pour les industries qui investissent dans des technologies de valorisation des sous-produits, des normes environnementales plus strictes pour encourager la réduction des sous-produits à la source et des mesures de soutien pour la recherche et l'innovation dans ce domaine.

- ➢ Collaborations intersectorielles et partenariats public-privé : Encourager les collaborations entre les secteurs public, privé et académique pour promouvoir le développement et le déploiement de solutions de valorisation des sous-produits végétaux. Les partenariats public-privé peuvent faciliter le partage des coûts, des ressources et des connaissances, ainsi que la mise en place d'infrastructures nécessaires à grande échelle.
- ➢ Optimisation des processus de conversion en bioénergie : Continuer à explorer et à optimiser les processus de conversion des sous-produits lignocellulosiques en bioénergie, en mettant l'accent sur l'amélioration des rendements, la réduction des coûts et l'optimisation des paramètres de production. Cela pourrait impliquer la recherche sur de nouvelles souches microbiennes, l'optimisation des conditions de fermentation et l'exploration de nouvelles technologies de production d'éthanol à partir de substrats lignocellulosiques.

En combinant ces perspectives avec des efforts continus de recherche, d'innovation technologique et de sensibilisation, il est possible de surmonter les défis actuels et de réaliser le potentiel important des sous-produits lignocellulosiques solides pour une économie circulaire et durable.

BIBLIOGRAPHIE

Abdel Wahab, W. A., Abd El Aty, A. A., and Mostafa, F. A. (2018). Improvement of catalytic, thermodynamics and antifungal activity of constitutive trichoderma longibrachiatum kt693225 exochitinase by covalent coupling to oxidized polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112 :179–187. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.156.

Agbor, V. B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., and Levin, D. B. (2011). Biomass pretreatment : Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, 29(6) :675–685. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005.

Ahmad Raus, R., Wan Nawawi, W. M. F., and Nasaruddin, R. R. (2021). Alginate and alginate composites for biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(3) :280–306. https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.10.001.

Akhtar, N., Goyal, D., and Goyal, A. (2017). Characterization of microwave-alkali-acid pretreated rice straw for optimization of ethanol production via simultaneous saccharification and fermentation (ssf). *Energy Conversion and Management*, 141 :133–144. https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.06.081.

Alio, M. A., Tugui, O.-C., Vial, C., and Pons, A. (2019). Microwave-assisted organosolv pretreatment of a sawmill mixed feedstock for bioethanol production in a wood biorefinery. *Bioresource Technology*, 276 :170–176. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.078.

Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., and Negro, M. J. (2010). Pretreatment technolo-

gies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis : a review. *Bioresource technology*, 101(13) :4851–4861. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093.

Auxenfans, T., Crônier, D., Chabbert, B., and Paës, G. (2017). Understanding the structural and chemical changes of plant biomass following steam explosion pretreatment. *Biotechnology for Biofuels*, 10(1) :1–16. https://doi.org/10.1186/s13068-017-0718-z.

Azuma, J., Tanaka, F., and Koshijima, T. (1984). Enhancement of enzymic susceptibility of lignocellulosic wastes by microwave irradiation. *Hakko Kogaku Zasshi ;(Japan)*, 62(4).

Baboukani, B. S., Vossoughi, M., and Alemzadeh, I. (2012). Optimisation of dilute-acid pretreatment conditions for enhancement sugar recovery and enzymatic hydrolysis of wheat straw. *Biosystems engineering*, 111(2) :166–174. https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2011.11.009.

Bandounas, L., Wierckx, N. J., de Winde, J. H., and Ruijssenaars, H. J. (2011). Isolation and characterization of novel bacterial strains exhibiting ligninolytic potential. *Bmc Biotechnology*, 11(1) :1–11. https://doi.org/10.1186/1472-6750-11-94.

Bano, S. and Negi, Y. S. (2017). Studies on cellulose nanocrystals isolated from groundnut shells. *Carbohydrate Polymers*, 157 :1041–1049. http://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.10.069.

Bansal, N., Tewari, R., Soni, R., and Soni, S. K. (2012). Production of cellulases from aspergillus niger ns-2 in solid state fermentation on agricultural and kitchen waste residues. *Waste management*, 32(7) :1341–1346. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.03.006.

Banu Jamaldheen, S., Kurade, M. B., Basak, B., Yoo, C. G., Oh, K. K., Jeon, B.-H., and Kim, T. H. (2022). A review on physico-chemical delignification as a pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced bioconversion. *Bioresource Technology*, 346 :126591. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126591.

Barakat, A., Mayer-Laigle, C., Solhy, A., Arancon, R. A. D., De Vries, H., and Luque, R. (2014). Mechanical pretreatments of lignocellulosic biomass : Towards facile and environmentally sound technologies for biofuels production. *RSC Advances*, 4(89) :48109 – 48127. https://doi.org/10.1039/c4ra07568d.

Barakat, A., Monlau, F., Solhy, A., and Carrere, H. (2015). Mechanical dissociation and fragmentation of lignocellulosic biomass : Effect of initial moisture, biochemical and structural proprieties on energy requirement. *Applied Energy*, 142 :240–246. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.12.076.

Barisik, G., Isci, A., Kutlu, N., Bagder Elmaci, S., and Akay, B. (2016). Optimization of organic acid pretreatment of wheat straw. *Biotechnology Progress*, 32(6) :1487–1493. https://doi.org/10.1002/btpr.2347.

Bbosa, D., Mba-Wright, M., and Brown, R. C. (2018). More than ethanol : a techno-economic analysis of a corn stover-ethanol biorefinery integrated with a hydrothermal liquefaction process to convert lignin into biochemicals. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12(3) :497–509. https://doi.org/10.1002/bbb.1866.

Benaddou, M., Hajjaj, H., and Diouri, M. (2023a). Eco-friendly utilisation of agricultural coproducts : Enhancing ruminant feed digestibility through synergistic fungal co-inoculation with fusarium solani, fusarium oxysporum, and penicillium chrysogenum. *Ecological Engineering & Environmental Technology*, 24. https://doi.org/10.12912/27197050/171590.

Benaddou, M., Hajjaj, H., and Diouri, M. (2023b). Fungal treatment and wheat straw blend for enhanced animal feed from olive pulp. *Journal of Ecological Engineering*, 24(12). https://doi.org/10.12911/22998993/172423.

Benali, T., Khabbach, A., Ennabili, A., and Hammani, K. (2017). Ethnopharmacological prospecting of medicinal plants from the Province of Guercif (NE of Morocco). *Moroccan Journal of Biology Number*, 14.

Bendaoud, A., Belkhiri, A., Maai, M., Moubchir, T., Hmamou, A., Tlemcani, S., Eloutassi, N., and Lahkimi, A. (2023). Simple and combined pretreatment of a mixture of forestry and aromatic-medicinal plant waste by chemical, physical and enzymatic methods. *Journal of Ecological Engineering*, 24(4). https://doi.org/10.12911/22998993/160094.

Bendaoud, A., Lahkimi, A., Kara, M., Moubchir, T., Assouguem, A., Belkhiri, A., Allali, A., Hmamou, A., Almeer, R., Sayed, A. A., Peluso, I., and Eloutassi, N. (2022). Field Study and Chemical Analysis of Plant Waste in the Fez-Meknes Region, Morocco. *Sustainability (Switzerland)*, 14(10). https://doi.org/10.3390/su14106029.

Bhutto, A. W., Qureshi, K., Harijan, K., Abro, R., Abbas, T., Bazmi, A. A., Karim, S., and Yu, G. (2017). Insight into progress in pre-treatment of lignocellulosic biomass. *Energy*, 122 :724–745. https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.01.005.

Bibra, M., Kunreddy, V. R., and Sani, R. K. (2018). Thermostable xylanase production by geobacillus sp. strain duselr13, and its application in ethanol production with lignocellulosic biomass. *Microorganisms*, 6(3) :93. https://doi.org/10.3390/microorganisms6030093.

Bicu, I. and Mustata, F. (2011). Cellulose extraction from orange peel using sulfite digestion reagents. *Bioresource Technology*, 102(21) :10013–10019. http://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2011.08.041.

Binod, P., Janu, K., Sindhu, R., and Pandey, A. (2011). Chapter 10 - hydrolysis of lignocellulosic biomass for bioethanol production. In *Biofuels*, pages 229–250. Academic Press, Amsterdam. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385099-7.00010-3.

Bissett, J., Gams, W., Jaklitsch, W., and Samuels, G. J. (2015). Accepted trichoderma names in the year 2015. *IMA fungus*, 6 :263–295.

Bonfiglio, F., Cagno, M., Rey, F., Torres, M., Böthig, S., Menéndez, P., and Mussatto, S. I. (2019). Pretreatment of switchgrass by steam explosion in a semi-continuous pre-pilot reactor. *Biomass and Bioenergy*, 121 :41–47. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.12.013.

Bouyahya, A., El Omari, N., Elmenyiy, N., Guaouguaou, F. E., Balahbib, A., Belmehdi, O., Salhi, N., Imtara, H., Mrabti, H. N., El-Shazly, M., and Bakri, Y. (2021). Moroccan antidiabetic medicinal plants : Ethnobotanical studies, phytochemical bioactive compounds, preclinical investigations, toxicological validations and clinical evidences ; challenges, guidance and perspectives for future management of diabetes worldw.

Brown, R. C. (2019). *Thermochemical processing of biomass : conversion into fuels, chemicals and power*. John Wiley & Sons.

Brown, T., Wright, M., Román-Leshkov, Y., and Brown, R. (2014). Techno-economic assessment (tea) of advanced biochemical and thermochemical biorefineries. In *Advances in biorefineries*, pages 34–66. Elsevier. https://doi.org/10.1533/9780857097385.1.34.

Bułkowska, K. and Klimiuk, E. (2016). Pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biomass for Biofuels*, pages 121–153.

Bulmău, C., Mărculescu, C., Badea, A., and Apostol, T. (2010). Pyrolysis parameters influencing the bio-char generation from wooden biomass. *University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin-Serie C : Electrical Engineering*, 72(1) :29–38.

Cai, B.-Y., Ge, J.-P., Ling, H.-Z., Cheng, K.-K., and Ping, W.-X. (2012). Statistical optimization of dilute sulfuric acid pretreatment of corncob for xylose recovery and ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 36 :250–257. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.10.023.

Camargo, D., Sydney, E. B., Leonel, L. V., Pintro, T. C., and Sene, L. (2019). Dilute acid hydrolysis of sweet sorghum bagasse and fermentability of the hemicellulosic hydrolysate. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 36(1) :143–156. https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190361s20170643.

Chabbert, B., Terryn, C., Herbaut, M., Vaidya, A., Habrant, A., Pas, G., and Donaldson, L. (2018). Fluorescence techniques can reveal cell wall organization and predict saccharification in pretreated wood biomass. *Industrial Crops and Products*, 123(June) :84–92. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.058.

Chahal, D. (1985). Solid-state fermentation with trichoderma reesei for cellulase production. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(1) :205–210. https://doi.org/10.1128/aem.49.1.205-210.1985.

Chandel, A. K., Chandrasekhar, G., Radhika, K., Ravinder, R., and Ravindra, P. (2011). Bioconversion of pentose sugars into ethanol : a review and future directions. *Biotechnol mol biol rev*, 6(1) :008–020. https://academicjournals.org/journal/BMBR/article-full-text-pdf/56B549611591.pdf.

Chandel, A. K., Garlapati, V. K., Singh, A. K., Antunes, F. A. F., and da Silva, S. S. (2018). The path forward for lignocellulose biorefineries : Bottlenecks, solutions, and perspective on commercialization. *Bioresource Technology*, 264 :370–381. https://doi.org//10.1016/j.biortech.2018.06.004.

Chen, H. and Fu, X. (2016). Industrial technologies for bioethanol production from lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 57 :468–478. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.069.

Chen, Z., Wang, Y., Cheng, H., and Zhou, H. (2022). Hemicellulose degradation : An overlooked issue in acidic deep eutectic solvents pretreatment of lignocellulosic biomass. *Industrial Crops and Products*, 187 :115335. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115335.

Chotirotsukon, C., Raita, M., Champreda, V., and Laosiripojana, N. (2019). Fractionation of sugarcane trash by oxalic-acid catalyzed glycerol-based organosolv followed by mild solvent delignification. *Industrial Crops and Products*, 141 :111753. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111753.

Choudhary, J., Singh, S., and Nain, L. (2017). Bioprospecting thermotolerant ethanologenic yeasts for simultaneous saccharification and fermentation from diverse environments. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 123(3) :342–346. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.10.007.

Chung, Y.-C., Bakalinsky, A., and Penner, M. H. (2005). *Enzymatic Saccharification and Fermentation of Xylose-Optimized Dilute Acid-Treated Lignocellulosics*, pages 947–961. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-991-2_81.

Conway, T. (1992). The entner-doudoroff pathway : history, physiology and molecular biology. *FEMS microbiology reviews*, 9(1) :1–27.

Couto, E., Calijuri, M. L., and Assemany, P. (2020). Biomass production in high rate ponds and hydrothermal liquefaction : Wastewater treatment and bioenergy integration. *Science of The Total Environment*, 724 :138104. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138104.

Dahnum, D., Tasum, S. O., Triwahyuni, E., Nurdin, M., and Abimanyu, H. (2015). Comparison of shf and ssf processes using enzyme and dry yeast for optimization of bioethanol production from empty fruit bunch. *Energy Procedia*, 68 :107–116. https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.03.238.

Das, S., Basumatary, S., Kalita, P., Kulkarni, V., Goswami, P., Garg, A., and Peng, X. (2020). Bioelectricity production from lignocellulosic biomass. *Lignocellulosic Biorefining Technologies*, pages 87–123. https://doi.org/10.1002/9781119568858.ch6.

Dashtban, M., Schraft, H., and Qin, W. (2009). Fungal bioconversion of lignocellulosic residues ; opportunities & perspectives. *International journal of biological sciences*, 5(6) :578. https://doi.org/10.7150/ijbs.5.578.

David, A. N., Sewsynker-Sukai, Y., Sithole, B., and Gueguim Kana, E. (2020). Development of a green liquor dregs pretreatment for enhanced glucose recovery from corn cobs and kinetic assessment on various bioethanol fermentation types. *Fuel*, 274 :117797. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117797.

Deanda, K., Zhang, M., Eddy, C., and Picataggio, S. (1996). Development of an arabinose-fermenting zymomonas mobilis strain by metabolic pathway engineering. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(12) :4465–4470.

Deejing, S. and Ketkorn, W. (2009). Comparison of hydrolysis conditions to recover reducing sugar from various lignocellulosic materials. *Chiang Mai J. Sci*, 36(3) :384–394.

Del Carmen Fong Lopez, M., Rigal, M., Rigal, L., Vilarem, G., and Vandenbossche, V. (2019). Influence of temperature and soda concentration in a thermo-mechano-chemical pretreatment for bioethanol production from sweet corn co-products. *Industrial Crops and Products*, 133 :317–324. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.044.

Demirbaş, A. (2005). Estimating of structural composition of wood and non-wood biomass samples. *Energy Sources*, 27(8) :761–767. http://doi.org/10.1080/00908310490450971.

Devi, G. S., Vaishnavi, S., Srinath, S., Dutt, B., and Rajmohan, K. (2020). Energy recovery from biomass using gasification. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, pages 363–382. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64321-6.00019-7.

Dharma Patria, R., Rehman, S., Vuppaladadiyam, A. K., Wang, H., Lin, C. S. K., Antunes, E., and Leu, S.-Y. (2022). Bioconversion of food and lignocellulosic wastes employing sugar platform : A review of enzymatic hydrolysis and kinetics. *Bioresource Technology*, 352 :127083. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127083.

Dien, B., Cotta, M., and Jeffries, T. (2003). Bacteria engineered for fuel ethanol production : current status. *Applied microbiology and biotechnology*, 63 :258–266. https://doi.org/10.1007/s00253-003-1444-y.

Dimos, K., Paschos, T., Louloudi, A., Kalogiannis, K. G., Lappas, A. A., Papayannakos, N., Kekos, D., and Mamma, D. (2019). Effect of various pretreatment methods on bioethanol production from cotton stalks. *Fermentation*, 5(1) :5. https://doi.org/10.3390/fermentation5010005.

Doran-Peterson, J., Cook, D. M., and Brandon, S. K. (2008). Microbial conversion of sugars from plant biomass to lactic acid or ethanol. *The Plant Journal*, 54(4) :582–592. https://doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03480.x.

Druzhinina, I. S., Komoń-Zelazowska, M., Ismaiel, A., Jaklitsch, W., Mullaw, T., Samuels, G. J., and Kubicek, C. P. (2012). Molecular phylogeny and species delimitation in the section longibrachiatum of trichoderma. *Fungal Genetics and Biology*, 49(5) :358–368. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2012.02.004.

Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., and Smith, F. (1951). A colorimetric method for the determination of sugars. *Nature*, 168 :167–167.

Duff, S. J. and Murray, W. D. (1996). Bioconversion of forest products industry waste cellulosics to fuel ethanol : A review. *Bioresource Technology*, 55(1) :1–33. https://doi.org/10.1016/0960-8524(95)00122-0.

Echresh Zadeh, Z., Abdulkhani, A., and Saha, B. (2021). A comparative production and characterisation of fast pyrolysis bio-oil from Populus and Spruce woods. *Energy*, 214 :118930. http://doi.org/10.1016/J.ENERGY.2020.118930.

Eggeman, T. and Elander, R. T. (2005). Process and economic analysis of pretreatment technologies. *Bioresource technology*, 96(18) :2019–2025. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.01.017.

Elachouri, M. (2018). Ethnobotany/Ethnopharmacology, and Bioprospecting : Issues on Knowledge and Uses of Medicinal Plants by Moroccan People. In *Natural Products and Drug Discovery*, pages 105–118. Elsevier. http://doi.org/10.1016/B978-0-08-102081-4.00005-8.

Eloutassi, N., Bouchra, L., Ben, S. M., Sidi, A. R., Ben, M., Eloutassi, N., Louaste, B., Boudine, L., and Remmal, A. (2014a). Valorisation de la biomasse lignocellulosique pour la production de bioéthanol de deuxième génération Oocysticidal Effect of Essential Oils (EOs) and their Major Components on Cryptosporidium baileyi and Cryptosporidium galli View project Extraction of Es. *Revue des Energies Renouvelables*, 17 :600–609.

Eloutassi, N., Louaste, B., Boudine, L., and Remmal, A. (2014b). Hydrolyse physico-chimique et biologique de la biomasse ligno-cellulosique pour la production de bio-éthanol de deuxième génération. *Nature & Technology*, 10 :10–14.

FAO (2014). Fao bioenergy & food security. approach : Implementation guide. Technical report, FAO. http://www.fao.org/docrep/019/i3672e/i3672e.pdf.

Faulon, J.-L., Carlson, G. A., and Hatcher, P. G. (1994). A three-dimensional model for lignocellulose from gymnospermous wood. *Organic Geochemistry*, 21(12) :1169–1179. https://doi.org/10.1016/0146-6380(94)90161-9.

FitzPatrick, M., Champagne, P., Cunningham, M. F., and Whitney, R. A. (2010). A biorefinery processing perspective : treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. *Bioresource technology*, 101(23) :8915–8922. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.125.

Fonseca, B. G., Mateo, S., Moya, A. J., and Roberto, I. C. (2018). Biotreatment optimization of rice straw hydrolyzates for ethanolic fermentation with scheffersomyces stipitis. *Biomass and Bioenergy*, 112 :19–28. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.02.003.

Frankó, B., Galbe, M., and Wallberg, O. (2016). Bioethanol production from forestry residues : A comparative techno-economic analysis. *Applied energy*, 184 :727–736. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.11.011.

Gabhane, J., Prince William, S., Gadhe, A., Rath, R., Vaidya, A. N., and Wate, S. (2014). Pretreatment of banana agricultural waste for bio-ethanol production : Individual and interactive effects of acid and alkali pretreatments with autoclaving, microwave heating and ultrasonication. *Waste Management*, 34(2) :498–503. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.10.013.

Galbe, M., Sassner, P., Wingren, A., and Zacchi, G. (2007). Process engineering economics of bioethanol production. *Biofuels*, pages 303–327. https://doi.org/10.1007/10_2007_063.

Galbe, M. and Zacchi, G. (2012). Pretreatment : the key to efficient utilization of lignocellulosic materials. *Biomass and bioenergy*, 46 :70–78. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.03.026.

Gao, H., Wang, Y., Yang, Q., Peng, H., Li, Y., Zhan, D., Wei, H., Lu, H., Bakr, M. M., EI-Sheekh, M. M., et *al*. (2021). Combined steam explosion and optimized green-liquor pretreatments are effective for complete saccharification to maximize bioethanol production by reducing lignocellulose recalcitrance in one-year-old bamboo. *Renewable Energy*, 175 :1069–1079. https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.05.016.

García-Torreiro, M., López-Abelairas, M., Lu-Chau, T., and Lema, J. (2016). Fungal pretreatment of agricultural residues for bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, 89 :486–492. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.036.

Gautam, S., Bundela, P., Pandey, A., Khan, J., Awasthi, M., and Sarsaiya, S. (2011). Optimization for the production of cellulase enzyme from municipal solid waste residue by two novel cellulolytic fungi. *Biotechnology research international*, 2011. https://doi.org/10.4061/2011/810425.

Ghose, T. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure and applied Chemistry*, 59(2) :257–268.

Gibreel, A., Sandercock, J. R., Lan, J., Goonewardene, L. A., Zijlstra, R. T., Curtis, J. M., and Bressler, D. C. (2009). Fermentation of barley by using saccharomyces cerevisiae : examination of barley as a feedstock for bioethanol production and value-added products. *Applied and environmental microbiology*, 75(5) :1363–1372. https://doi.org/10.1128/AEM.01512-08.

Godin, B., Ghysel, F., Agneessens, R., Schmit, T., Gofflot, S., Lamaudiere, S., Sinnaeve, G., Goffart, J.-P., Gerin, P. A., Stilmant, D., et *al*. (2010). Cellulose, hemicelluloses, lignin, and ash contents in various lignocellulosic crops for second generation bioethanol production. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 14(S2) :549–560.

Gray, K. A., Zhao, L., and Emptage, M. (2006). Bioethanol. *Current Opinion in Chemical Biology*, 10(2) :141–146. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.02.035.

Gubicza, K., Nieves, I. U., Sagues, W. J., Barta, Z., Shanmugam, K., and Ingram, L. O. (2016). Techno-economic analysis of ethanol production from sugarcane bagasse using a liquefaction plus simultaneous saccharification and co-fermentation process. *Bioresource technology*, 208 :42–48. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.093.

Guedira, A., Lamhamedi, M. S., Satrani, B., Boulmane, M., Serrar, M., and Douira, A. (2012). Valorisation des matières résiduelles et de la biomasse forestière au maroc : Compostage et confection de substrats organiques pour la production de plants forestiers. *Nature & Technology*, 7 :87.

Guo, Z., Zhang, Q., You, T., Ji, Z., Zhang, X., Qin, Y., and Xu, F. (2019). Heteropoly acids enhanced neutral deep eutectic solvent pretreatment for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation of miscanthus x giganteus under mild conditions. *Bioresource Technology*, 293 :122036. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122036.

Guoweia, S., Man, H., Shikai, W., and He, C. (2011). Effect of some factors on production of cellulase by trichoderma reesei hy07. *Procedia Environmental Sciences*, 8 :357–361. https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.10.056.

Gírio, F., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L., Marques, S., and Bogel-Łukasik, R. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol : A review. *Bioresource Technology*, 101(13) :4775–4800. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.088.

Hakeem, K. R., Jawaid, M., and Rashid, U. (2015). Biomass and bioenergy : Applications. *Biomass and Bioenergy : Applications*, pages 1–397. https://doi.org/10.1007/978-3-319-07578-5.

Hasanly, A., Khajeh Talkhoncheh, M., and Karimi *al*avijeh, M. (2018). Techno-economic assessment of bioethanol production from wheat straw : a case study of iran. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20 :357–377. https://doi.org/10.1007/s10098-017-1476-0.

Hatakka, A. and Hammel, K. E. (2011). *Fungal Biodegradation of Lignocelluloses*, pages

319–340. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-11458-8_15".

Haut comissariat aux eaux et foret et à la lutte contre la désertification Marocaine (2016). Stratégie bois-énergie. http://www.eauxetforets.gov.ma/, consulté le 20 Août 2023.

HCEFLCD (2016). In stratégie bois-energie. Technical report, HCEFLCD. http://www.eauxetforets.gov.ma.

Hendriks, A. and Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 100(1) :10–18. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027.

Ibarra-Gonzalez, P. and Rong, B.-G. (2019). A review of the current state of biofuels production from lignocellulosic biomass using thermochemical conversion routes. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 27(7) :1523–1535. https://doi.org/10.1016/j.cjche.2018.09.018.

IRENA (2021a). International Renewable Energy Agency. https://irena.org/bioenergy.

IRENA (2021b). Renewable capacity statistics 2021 International Renewable Energy Agency (IRENA), Abu Dhabi. Technical report, IRENA. https://irena.org.

ISO (2006a). *Life cycle assessment ; Principles and Framework*. ISO.

ISO (2006b). *Life cycle assessment ; requirements and guidelines*, volume 14044. ISO Geneva, Switzerland.

Janusz, G., Pawlik, A., Sulej, J., Świderska Burek, U., Jarosz-Wilkołazka, A., and Paszczyński, A. (2017). Lignin degradation : microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(6) :941–962. https://doi.org/10.1093/femsre/fux049.

Ji, L., Lei, F., Zhang, W., Song, X., Jiang, J., and Wang, K. (2019). Enhancement of bioethanol production from moso bamboo pretreated with biodiesel crude glycerol : Substrate digestibility, cellulase absorption and fermentability. *Bioresource Technology*, 276 :300–309. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.017.

Jin, X., Song, J., and Liu, G.-Q. (2020). Bioethanol production from rice straw through an enzymatic route mediated by enzymes developed in-house from aspergillus fumigatus. *Energy*, 190 :116395. https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.116395.

Juturu, V. and Wu, J. C. (2014). Microbial cellulases : Engineering, production and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33 :188–203. https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.077.

Kameshwar, A. k. S. and Qin, W. (2016). Recent developments in using advanced sequencing technologies for the genomic studies of lignin and cellulose degrading microorganisms. *Int J Biol Sci*, 12 :156–171. https://doi.org/10.7150/ijbs.13537.

Kang, S., Park, Y., Lee, J., Hong, S., and Kim, S. (2004). Production of cellulases and hemicellulases by aspergillus niger kk2 from lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 91(2) :153–156. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00172-X.

Kang, S., Xiao, L., Meng, L., Zhang, X., and Sun, R. (2012). Isolation and structural characterization of lignin from cotton stalk treated in an ammonia hydrothermal system. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11) :15209–15226. https://doi.org/10.3390/ijms131115209.

Kapoor, R., Ghosh, P., Kumar, M., Sengupta, S., Gupta, A., Kumar, S. S., Vijay, V., Kumar, V., Vijay, V. K., and Pant, D. (2020). Valorization of agricultural waste for biogas based circular economy in india : A research outlook. *Bioresource Technology*, 304 :123036. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123036.

Kavitha, S., Gajendran, T., Saranya, K., Selvakumar, P., and Manivasagan, V. (2021). Study on consolidated bioprocessing of pre-treated nannochloropsis gaditana biomass into ethanol under optimal strategy. *Renewable Energy*, 172 :440–452. https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.03.015.

Kawaguchi, H., Hasunuma, T., Ogino, C., and Kondo, A. (2016). Bioprocessing of bio-based chemicals produced from lignocellulosic feedstocks. *Current opinion in biotechnology*, 42 :30–39. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.02.031.

Kharbouch, B., Dupuy, S., Amat, A., Lakhtar, H., and Mousadik, N. E. (2018). *Traitement et*

valorisation des sous-produits oléicoles par compostage et lombricompostage. PhD thesis, Aix-Marseille Université.

Kim, J. S., Lee, Y., and Kim, T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 199 :42–48. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.085.

Kim, S. J., Um, B. H., Im, D. J., Lee, J. H., and Oh, K. K. (2018). Combined ball milling and ethanol organosolv pretreatment to improve the enzymatic digestibility of three types of herbaceous biomass. *Energies*, 11(9) :2457. https://doi.org/10.3390/en11092457.

Kim, T. H. (2013). Pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioprocessing technologies in biorefinery for sustainable production of fuels, chemicals, and polymers*, pages 91–110. https://doi.org/10.1002/9781118642047.ch6.

Kim, T. H., Gupta, R., and Lee, Y. (2009). Pretreatment of biomass by aqueous ammonia for bioethanol production. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 581 :79 – 91. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-214-8_6.

Kousksou, T., Allouhi, A., Belattar, M., Jamil, A., El Rhafiki, T., Arid, A., and Zeraouli, Y. (2015). Renewable energy potential and national policy directions for sustainable development in Morocco. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 47 :46–57. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.056.

Kouteu Nanssou, P. A., Jiokap Nono, Y., and Kapseu, C. (2016). Pretreatment of cassava stems and peelings by thermohydrolysis to enhance hydrolysis yield of cellulose in bioethanol production process. *Renewable Energy*, 97 :252–265. http://doi.org/10.1016/j.renene.2016.05.050.

Kuhad, R. C., Gupta, R., and Singh, A. (2011). Microbial cellulases and their industrial applications. *Enzyme Research*, 2011(1). dhttps://doi.org/10.4061/2011/280696.

Kumar, L., Arantes, V., Chandra, R., and Saddler, J. (2012). The lignin present in steam pretreated softwood binds enzymes and limits cellulose accessibility. *Bioresource technology*, 103(1) :201–208. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.091.

Kummamuru, B. et *al*. (2016). Wba global bioenergy statistics 2017. *World Bioenergy Association*, 436. https://doi:10.1016/0165-232X(80)90063-4.

Li, W., Zhao, L., and He, X. (2022). Degradation potential of different lignocellulosic residues by trichoderma longibrachiatum and trichoderma afroharzianum under solid state fermentation. *Process Biochemistry*, 112 :6–17. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.011.

Liao, H., Fan, X., Mei, X., Wei, Z., Raza, W., Shen, Q., and Xu, Y. (2015). Production and characterization of cellulolytic enzyme from penicillium oxalicum gz-2 and its application in lignocellulose saccharification. *Biomass and Bioenergy*, 74 :122–134. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.01.016.

Liew, F. M., Köpke, M., and Simpson, S. D. (2013). Gas fermentation for commercial biofuels production. *Liquid, gaseous and solid biofuels-Conversion techniques*, pages 125–173.

Liu, Y., Zheng, X., Tao, S., Hu, L., Zhang, X., and Lin, X. (2021a). Process optimization for deep eutectic solvent pretreatment and enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse for cellulosic ethanol fermentation. *Renewable Energy*, 177 :259–267. https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.05.131.

Liu, Z.-H., Hao, N., Wang, Y.-Y., Dou, C., Lin, F., Shen, R., Bura, R., Hodge, D. B., Dale, B. E., Ragauskas, A. J., Yang, B., and Yuan, J. S. (2021b). Transforming biorefinery designs with 'plug-in processes of lignin' to enable economic waste valorization. *Nature Communications*, 12(1). 10.1038/s41467-021-23920-4.

Lizasoain, J., Rincón, M., Theuretzbacher, F., Enguídanos, R., Nielsen, P. J., Potthast, A., Zweckmair, T., Gronauer, A., and Bauer, A. (2016). Biogas production from reed biomass : Effect of pretreatment using different steam explosion conditions. *Biomass and Bioenergy*, 95 :84–91. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.09.021.

Loaces, I., Schein, S., and Noya, F. (2017). Ethanol production by escherichia coli from arundo donax biomass under ssf, shf or cbp process configurations and in situ production of a multifunctional glucanase and xylanase. *Bioresource Technology*, 224 :307–313. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.075.

Losordo, Z., McBride, J., Rooyen, J. V., Wenger, K., Willies, D., Froehlich, A., Macedo, I., and Lynd, L. (2016). Cost competitive second-generation ethanol production from hemicellulose in a brazilian sugarcane biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 10(5) :589–602. https://doi.org/10.1002/bbb.1663.

Lu, X. B., Zhang, Y. M., Yang, J., and Liang, Y. (2007). Enzymatic hydrolysis of corn stover after pretreatment with dilute sulfuric acid. *Chemical Engineering & Technology*, 30(7) :938–944. https://doi.org/10.1002/ceat.200700035.

Lyczakowski, J. J., Wicher, K. B., Terrett, O. M., Faria-Blanc, N., Yu, X., Brown, D., Krogh, K. B., Dupree, P., and Busse-Wicher, M. (2017). Removal of glucuronic acid from xylan is a strategy to improve the conversion of plant biomass to sugars for bioenergy. *Biotechnology for Biofuels*, 10(1) :1–11. https://doi.org/10.1186/s13068-017-0902-1.

Maki, M., Leung, K. T., and Qin, W. (2009). The prospects of cellulase-producing bacteria for the bioconversion of lignocellulosic biomass. *International journal of biological sciences*, 5(5) :500. https://doi:10.7150/ijbs.5.500.

MANDELS, M. (1969). The production of cellulases. *Cellulases and its Application*, pages 391–414.

Martínez, Á. T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F. J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., Martínez, M. J., Gutiérrez Suárez, A., and Río Andrade, J. C. d. (2005). Biodegradation of lignocellulosics : microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International microbiology : the official journal of the Spanish Society for Microbiology*.

Martínez-Patiño, J. C., Lu-Chau, T. A., Gullón, B., Ruiz, E., Romero, I., Castro, E., and Lema, J. M. (2018). Application of a combined fungal and diluted acid pretreatment on olive tree biomass. *Industrial Crops and Products*, 121 :10–17. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.078.

Marzo, C., Díaz, A. B., Caro, I., and Blandino, A. (2019). Chapter 4 - status and perspectives in bioethanol production from sugar beet. In *Bioethanol Production from Food Crops*, pages 61–79. Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813766-6.00004-7.

Maurya, D. P., Singla, A., and Negi, S. (2015). An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech*, 5 :597–609. https://doi.org/10.1007/s13205-015-0279-4.

Mendiburu, A. Z., Lauermann, C. H., Hayashi, T. C., Mariños, D. J., Rodrigues da Costa, R. B., Coronado, C. J., Roberts, J. J., and de Carvalho, J. A. (2022). Ethanol as a renewable biofuel :

Combustion characteristics and application in engines. *Energy*, 257 :124688. https://doi.org/10.1016/j.energy.2022.124688.

Meng, X., Pu, Y., Yoo, C. G., Li, M., Bali, G., Park, D. Y., Gjersing, E., Davis, M. F., Muchero, W., Tuskan, G. A., Tschaplinski, T. J., and Ragauskas, A. J. (2017). An In-Depth Understanding of Biomass Recalcitrance Using Natural Poplar Variants as the Feedstock. *ChemSusChem*, 10(1) :139–150. http://doi.org/10.1002/cssc.201601303.

Mensah, M. B., Jumpah, H., Boadi, N. O., and Awudza, J. A. (2021). Assessment of quantities and composition of corn stover in Ghana and their conversion into bioethanol. *Scientific African*, 12 :e00731. http://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00731.

Michalska, K., Bizukojć, M., and Ledakowicz, S. (2015). Pretreatment of energy crops with sodium hydroxide and cellulolytic enzymes to increase biogas production. *Biomass and Bioenergy*, 80 :213–221. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.05.022.

Mikou, K., Rachiq, S., and Jarrar Oulidi, A. (2016). Étude ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques utilisées dans la ville de Fès au Maroc. *Phytotherapie*, 14(1) :35–43.

Millati, R., Syamsiah, S., Niklasson, C., Cahyanto, M. N., Ludquist, K., Taherzadeh, M. J., et *al.* (2011). Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications : a review. *BioResources*, 6(4) :5224–5259.

Miller, G. L. (1959a). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3) :426–428.

Miller, G. L. (1959b). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3) :426–428.

Ministère de la transition énergitique et du développement durable (2021). Valorisation énergétique de biomasse.

Ministère de la transition énérgetique et du développement durable (2024). Système d'information régional de l'environnement et du développement durable. site web. https://siredd.environnement.gov.ma/, consulté le 20 Avril 2024.

Ministère de l'agriculture marocaine (2019). site web. http://www.agriculture.gov.ma/, consulté le 20 Mars 2022.

Ministère intérieure Marocaine (2015). Monographie de la région fès-meknès. site web. https://collectivites-territoriales.gov.ma/, consulté le 10 Avril 2022.

Mithra, M., Jeeva, M., Sajeev, M., and Padmaja, G. (2018). Comparison of ethanol yield from pretreated lignocellulo-starch biomass under fed-batch shf or ssf modes. *Heliyon*, 4(10). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00885.

Mohanty, S. K. and Swain, M. R. (2019). Chapter 3 - bioethanol production from corn and wheat : Food, fuel, and future. In *Bioethanol Production from Food Crops*, pages 45–59. Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813766-6.00003-5.

Molino, A., Chianese, S., and Musmarra, D. (2016). Biomass gasification technology : The state of the art overview. *Journal of Energy Chemistry*, 25(1) :10–25. https://doi.org/10.1016/j.jechem.2015.11.005.

Molla, A. H., Fakhru'l-Razi, A., and Alam, M. Z. (2004). Evaluation of solid-state bioconversion of domestic wastewater sludge as a promising environmental-friendly disposal technique. *Water research*, 38(19) :4143–4152. https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.08.002.

Moncada, J., Cardona, C. A., Higuita, J. C., Vélez, J. J., and López-Suarez, F. E. (2016). Wood residue (pinus patula bark) as an alternative feedstock for producing ethanol and furfural in colombia : experimental, techno-economic and environmental assessments. *Chemical Engineering Science*, 140 :309–318. https://doi.org/10.1016/j.ces.2015.10.027.

Moniz, P., Pereira, H., Duarte, L. C., and Carvalheiro, F. (2014). Hydrothermal production and gel filtration purification of xylo-oligosaccharides from rice straw. *Industrial Crops and Products*, 62 :460–465. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.020.

Montibeller, V. W., Souza Vandenberghe, L. P. d., Amore, A., Soccol, C. R., Birolo, L., Vinciguerra, R., Xavier Salmon, D. N., Spier, M. R., and Faraco, V. (2014). Characterization of hemicellulolytic enzymes produced by aspergillus niger nrrl 328 under solid state fermentation on soybean husks. *BioResources*, 9(4) :7128 – 7140.

Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y., Holtzapple, M., and Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96(6) :673–686. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025.

Mączyńska, J., Krzywonos, M., Kupczyk, A., Tucki, K., Sikora, M., Pińkowska, H., Bączyk, A., and Wielewska, I. (2019). Production and use of biofuels for transport in poland and brazil – the case of bioethanol. *Fuel*, 241 :989–996. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.12.116.

Nargotra, P., Sharma, V., and Bajaj, B. K. (2019). Consolidated bioprocessing of surfactant-assisted ionic liquid-pretreated parthenium hysterophorus l. biomass for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 289 :121611. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121611.

Noether, H. D. (1962). *Die Hochmolekularen Organischen Verbindungen. Kautschuk und Cellulose*, volume 84. ACS Publications. http://doi.org/10.1021/ja00863a050.

Nosratpour, M. J., Karimi, K., and Sadeghi, M. (2018). Improvement of ethanol and biogas production from sugarcane bagasse using sodium alkaline pretreatments. *Journal of Environmental Management*, 226 :329–339. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.08.058.

Nuithitikul, K., Phromrak, R., and Saengngoen, W. (2020). Utilization of chemically treated cashew-nut shell as potential adsorbent for removal of Pb(II) ions from aqueous solution. *Scientific Reports*, 10(1) :1–14. Available at http://doi.org/10.1038/s41598-020-60161-9.

Okolie, J. A., Mukherjee, A., Nanda, S., Dalai, A. K., and Kozinski, J. A. (2021). Next-generation biofuels and platform biochemicals from lignocellulosic biomass. *International Journal of Energy Research*, 45(10) :14145–14169. https://doi.org/10.1002/er.6697.

Oliveira, M. C. and Rosentrater, K. A. (2017). Life cycle assessment and techno-economic analysis of ethanol production : A review. In *2017 ASABE Annual International Meeting*, page 1. American Society of Agricultural and Biological Engineers. https://doi:10.13031/aim.201700680.

Ooshima, H., Aso, K., Harano, Y., and Yamamoto, T. (1984). Microwave treatment of cellulosic materials for their enzymatic hydrolysis. *Biotechnology Letters*, 6 :289–294. https://doi.org/10.1007/BF00129056.

Ortiz, F. J. G. (2020). Techno-economic assessment of supercritical processes for biofuel pro-

duction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 160 :104788. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104788.

Pandey, A. K. and Negi, S. (2020). Enhanced cellulase recovery in ssf from rhizopus oryzae sn5 and immobilization for multi-batch saccharification of carboxymethylcellulose. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 26 :101656. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101656.

Panesar, P. S., Marwaha, S. S., and Kennedy, J. F. (2006). Zymomonas mobilis : an alternative ethanol producer. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology : International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 81(4) :623–635. https://doi:10.1002/jctb.1448.

Pant, S., Ritika, and Kuila, A. (2022). Pretreatment of lignocellulosic biomass for bioethanol production. *Advanced Biofuel Technologies : Present Status, Challenges and Future Prospects*, pages 177–194. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88427-3.00008-8.

Passos, C. P., Yilmaz, S., Silva, C. M., and Coimbra, M. A. (2009). Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food Chemistry*, 115(1) :48–53. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.064.

Patni, N., Pillai, S. G., and Dwivedi, A. H. (2013). Wheat as a promising substitute of corn for bioethanol production. *Procedia Engineering*, 51 :355–362. https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.01.049.

Paudel, S. R., Banjara, S. P., Choi, O. K., Park, K. Y., Kim, Y. M., and Lee, J. W. (2017). Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion : Current state and challenges. *Bioresource Technology*, 245 :1194–1205. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.182.

Paudel, Y., Qin, W., et *al*. (2015). Two bacillus species isolated from rotting wood samples are good candidates for the production of bioethanol using agave biomass. *J. Microb. Biochem. Technol*, 7 :218–225. https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000210.

Pedersen, L. and Kines, P. (2011). Why do workers work safely development of safety motivation questionnaire scales. *Safety Science Monitor*, 2011(1).

Peng, F., Peng, P., Xu, F., and Sun, R.-C. (2012). Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. *Biotechnology Advances*, 30(4) :879–903. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.018.

Pérez, J., Munoz-Dorado, J., De la Rubia, T., and Martinez, J. (2002). Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin : an overview. *International microbiology*, 5 :53–63. https://doi.org/10.1007/s10123-002-0062-3.

Periyasamy, S., Beula Isabel, J., Kavitha, S., Karthik, V., Mohamed, B. A., Gizaw, D. G., Sivashanmugam, P., and Aminabhavi, T. M. (2023). Recent advances in consolidated bioprocessing for conversion of lignocellulosic biomass into bioethanol – a review. *Chemical Engineering Journal*, 453 :139783. https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139783.

Perlack, R. D. (2005). *Biomass as feedstock for a bioenergy and bioproducts industry : the technical feasibility of a billion-ton annual supply*. Oak Ridge National Laboratory.

Petersen, A. M., Van der Westhuizen, W. A., Mandegari, M. A., and Görgens, J. F. (2018). Economic analysis of bioethanol and electricity production from sugarcane in south africa. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12(2) :224–238. https://doi.org/10.1002/bbb.1833.

Prakash, O., Naik, M., Katiyar, R., Naik, S., Kumar, D., Maji, D., Shukla, A., Nannaware, A. D., Kalra, A., and Rout, P. K. (2018). Novel process for isolation of major bio-polymers from Mentha arvensis distilled biomass and saccharification of the isolated cellulose to glucose. *Industrial Crops and Products*, 119 :1–8. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.063.

Putro, J. N., Soetaredjo, F. E., Lin, S.-Y., Ju, Y.-H., and Ismadji, S. (2016). Pretreatment and conversion of lignocellulose biomass into valuable chemicals. *RSC Advances*, 6(52) :46834 – 46852. https://doi.org/10.1039/c6ra09851g.

Qian, K., Kumar, A., Patil, K., Bellmer, D., Wang, D., Yuan, W., and Huhnke, R. L. (2013). Effects of biomass feedstocks and gasification conditions on the physiochemical properties of char. *Energies*, 6(8) :3972–3986. https://doi.org/10.3390/en6083972.

Qian, L., Fu, S., Zhou, H., Sun, J., Weng, X., et *al*. (2012). Optimization of fermentation para-

meters for β-glucosidase production by aspergillus niger. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(5) :583–591. https://doi.org/10.3923/javaa.2012.583.591.

Qiu, J., Tian, D., Shen, F., Hu, J., Zeng, Y., Yang, G., Zhang, Y., Deng, S., and Zhang, J. (2018). Bioethanol production from wheat straw by phosphoric acid plus hydrogen peroxide (php) pretreatment via simultaneous saccharification and fermentation (ssf) at high solid loadings. *Bioresource Technology*, 268 :355–362. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.009.

Rahmani, A. M., Gahlot, P., Moustakas, K., Kazmi, A., Ojha, C. S. P., and Tyagi, V. K. (2022). Pretreatment methods to enhance solubilization and anaerobic biodegradability of lignocellulosic biomass (wheat straw) : Progress and challenges. *Fuel*, 319 :123726. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.123726.

Rajan, K. and Carrier, D. J. (2014). Effect of dilute acid pretreatment conditions and washing on the production of inhibitors and on recovery of sugars during wheat straw enzymatic hydrolysis. *Biomass and Bioenergy*, 62 :222–227. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.01.013.

Rani, J. and Dhoble, A. S. (2023). Effect of fungal pretreatment by pycnoporus sanguineus and trichoderma longibrachiatum on the anaerobic digestion of rice straw. *Bioresource Technology*, 387 :129503. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129503.

Rathnayake, M., Chaireongsirikul, T., Svangariyaskul, A., Lawtrakul, L., and Toochinda, P. (2018). Process simulation based life cycle assessment for bioethanol production from cassava, cane molasses, and rice straw. *Journal of cleaner production*, 190 :24–35. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.04.152.

Ravindran, R. and Jaiswal, A. K. (2016). A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste : Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 199 :92–102. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.106.

Redding, A. P., Wang, Z., Keshwani, D. R., and Cheng, J. J. (2011). High temperature dilute acid pretreatment of coastal bermuda grass for enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 102(2) :1415–1424. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.053.

Rezania, S., Oryani, B., Cho, J., Talaiekhozani, A., Sabbagh, F., Hashemi, B., Rupani, P. F., and Mohammadi, A. A. (2020). Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production : An overview. *Energy*, 199 :117457. https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117457.

RFA (2022). Annual world fuel ethanol production. https://ethanolrfa.org/markets-and-statistics/annual-ethanol-production, consulté le 20 Août 2023.

Robak, K. and Balcerek, M. (2018). Review of second generation bioethanol production from residual biomass. *Food Technology and Biotechnology*, 56(2) :174–187. http://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5428.

Rodrigues Mota, T., Matias de Oliveira, D., Marchiosi, R., Ferrarese-Filho, O., and Dantas dos Santos, W. (2018). Plant cell wall composition and enzymatic deconstruction. *AIMS Bioengineering*, 5(1) :63–77. http://doi.org/10.3934/bioeng.2018.1.63.

Rodríguez-Fernández, D., Rodríguez-León, J., De Carvalho, J., Sturm, W., and Soccol, C. (2011). The behavior of kinetic parameters in production of pectinase and xylanase by solid-state fermentation. *Bioresource Technology*, 102(22) :10657–10662. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.106.

Rogers, P., Jeon, Y., Lee, K., and Lawford, H. (2007). Zymomonas mobilis for fuel ethanol and higher value products. *Biofuels*, pages 263–288. https://doi.org/10.1007/10_2007_060.

Romaní, A., Rocha, C. M., Michelin, M., Domingues, L., and Teixeira, J. A. (2020). Valorization of lignocellulosic-based wastes. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering : Resource Recovery from Wastes*, pages 383–410.

Roy, P. (2014). *Life cycle assessment of ethanol produced from lignocellulosic biomass : Techno-economic and environmental evaluation*. PhD thesis, University of Guelph.

Roy, P., Tokuyasu, K., Orikasa, T., Nakamura, N., and Shiina, T. (2012). A review of life cycle assessment (lca) of bioethanol from lignocellulosic biomass. *Japan Agricultural Research Quarterly : JARQ*, 46(1) :41–57. https://doi.org/10.6090/jarq.46.41.

Ruiz, H. A., Silva, D. P., Ruzene, D. S., Lima, L. F., Vicente, A. A., and Teixeira, J. A. (2012). Bioethanol production from hydrothermal pretreated wheat straw by a flocculating saccharomyces cerevisiae strain – effect of process conditions. *Fuel*, 95 :528–536. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.10.060.

Saha, B. C., Yoshida, T., Cotta, M. A., and Sonomoto, K. (2013). Hydrothermal pretreatment and enzymatic saccharification of corn stover for efficient ethanol production. *Industrial Crops and Products*, 44 :367–372. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.025.

Sahadevan, L. D. M., Misra, C. S., et *al*. (2013). Ligninolytic enzymes for application in treatment of effluent from pulp and paper industries. *Universal Journal of Environmental Research & Technology*, 3(1).

Saigal, D. (1993). Yeast strain development for ethanol production. *Indian Journal of Microbiology*, 33 :159–159.

Saini, J. K., Patel, A. K., Adsul, M., and Singhania, R. R. (2016). Cellulase adsorption on lignin : A roadblock for economic hydrolysis of biomass. *Renewable Energy*, 98 :29–42. https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.089.

Salihu, A., Abbas, O., Sallau, A. B., and Alam, M. Z. (2015). Agricultural residues for cellulolytic enzyme production by aspergillus niger : effects of pretreatment. *3 Biotech*, 5 :1101–1106. https://doi.org/10.1007/s13205-015-0294-5.

Sánchez-Gutiérrez, M., Espinosa, E., Bascón-Villegas, I., Pérez-Rodríguez, F., Carrasco, E., and Rodríguez, A. (2020). Production of cellulose nanofibers from olive tree harvest - A residue with wide applications. *Agronomy*, 10(5). http://doi.org/10.3390/agronomy10050696.

Saritha, M., Arora, A., and Lata (2012). Biological pretreatment of lignocellulosic substrates for enhanced delignification and enzymatic digestibility. *Indian journal of microbiology*, 52 :122–130. https://doi.org/10.1007/s12088-011-0199-x.

Scopus (2024). Scopus. https://www.scopus.com Consulté le : 01/04/2024.

Sharma, B., Larroche, C., and Dussap, C.-G. (2020). Comprehensive assessment of 2g bioethanol production. *Bioresource Technology*, 313 :123630. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123630.

Sharma, H. K., Xu, C., and Qin, W. (2019). Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproducts : An Overview. https://doi.org/10.1007/s12649-017-0059-y.

Shawky, B. T., Mahmoud, M. G., Ghazy, E. A., Asker, M. M., and Ibrahim, G. S. (2011). Enzymatic hydrolysis of rice straw and corn stalks for monosugars production. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 9(1) :59–63. http://doi.org/10.1016/j.jgeb.2011.05.001.

Shemfe, M. B., Gu, S., and Ranganathan, P. (2015). Techno-economic performance analysis of biofuel production and miniature electric power generation from biomass fast pyrolysis and bio-oil upgrading. *Fuel*, 143 :361–372. http://doi.org/10.1016/J.FUEL.2014.11.078.

Shen, J. and Wyman, C. E. (2011). A novel mechanism and kinetic model to explain enhanced xylose yields from dilute sulfuric acid compared to hydrothermal pretreatment of corn stover. *Bioresource Technology*, 102(19) :9111–9120. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.001.

sheng Xue, D., Zeng, X., Lin, D., and Yao, S. (2018). Ethanol tolerant endoglucanase from aspergillus niger isolated from wine fermentation cellar. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 15 :19–24. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.04.016.

Shinners, K., Adsit, G., Binversie, B., Digman, M., Muck, R., and Weimer, P. (2007). Single-Pass, Split-Stream of Corn Grain and Stover. *Transactions of the ASABE*, 50(2) :355–363. https://doi.org/10.13031/2013.22143.

Shirkavand, E., Baroutian, S., Gapes, D. J., and Young, B. R. (2016). Combination of fungal and physicochemical processes for lignocellulosic biomass pretreatment – a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 54 :217–234. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.003.

Sikarwar, V. S., Pohořelỳ, M., Meers, E., Skoblia, S., Moško, J., and Jeremiáš, M. (2021). Potential of coupling anaerobic digestion with thermochemical technologies for waste valorization. *Fuel*, 294 :120533. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120533.

Sindhu, R., Binod, P., and Pandey, A. (2016). Biological pretreatment of lignocellulosic

biomass–an overview. *Bioresource technology*, 199 :76–82. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.030.

Singh, J., Suhag, M., and Dhaka, A. (2015). Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods : a review. *Carbohydrate polymers*, 117 :624–631. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.012.

Singh, N., Gupta, A., Mathur, A. S., Barrow, C., and Puri, M. (2020). Integrated consolidated bioprocessing for simultaneous production of omega-3 fatty acids and bioethanol. *Biomass and Bioenergy*, 137 :105555. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105555.

Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3) :144–158. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144.

Solarte-Toro, J. C., Romero-García, J. M., Martínez-Patiño, J. C., Ruiz-Ramos, E., Castro-Galiano, E., and Cardona-Alzate, C. A. (2019). Acid pretreatment of lignocellulosic biomass for energy vectors production : A review focused on operational conditions and techno-economic assessment for bioethanol production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 107 :587–601. https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.02.024.

Song, Y., Gyo Lee, Y., Jin Cho, E., and Bae, H.-J. (2020). Production of xylose, xylulose, xylitol, and bioethanol from waste bamboo using hydrogen peroxicde-acetic acid pretreatment. *Fuel*, 278 :118247. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118247.

Sreemahadevan, S., Roychoudhury, P. K., Thankamani, V., and Ahammad, S. Z. (2018). Biological pretreatment of rice straw using an alkalophilic fungus mvi.2011 for enhanced enzymatic hydrolysis yield. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 30 :304–313. https://doi.org/10.1016/j.seta.2018.10.015.

Stamogiannou, I., Van Camp, J., Smagghe, G., Van de Walle, D., Dewettinck, K., and Raes, K. (2021). Impact of phenolic compound as activators or inhibitors on the enzymatic hydrolysis of cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186 :174–180. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.052.

Stanley, J. T., Thanarasu, A., Kumar, P. S., Periyasamy, K., Raghunandhakumar, S., Periyaraman, P., Devaraj, K., Dhanasekaran, A., and Subramanian, S. (2022). Potential pre-treatment

of lignocellulosic biomass for the enhancement of biomethane production through anaerobic digestion-a review. *Fuel*, 318 :123593. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.123593.

Su, H., Liu, G., He, M., and Tan, F. (2015). A biorefining process : Sequential, combinational lignocellulose pretreatment procedure for improving biobutanol production from sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 187 :149–160. https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.03.107.

Sukumaran, R. K., Singhania, R. R., Mathew, G. M., and Pandey, A. (2009). Cellulase production using biomass feed stock and its application in lignocellulose saccharification for bio-ethanol production. *Renewable energy*, 34(2) :421–424. https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.05.008.

Sun, D., Lv, Z.-W., Rao, J., Tian, R., Sun, S.-N., and Peng, F. (2022). Effects of hydrothermal pretreatment on the dissolution and structural evolution of hemicelluloses and lignin : A review. *Carbohydrate Polymers*, 281 :119050. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.119050.

Sun, Y. and Cheng, J. (2002a). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production : a review. *Bioresource technology*, 83(1) :1–11. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7.

Sun, Y. and Cheng, J. (2002b). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production : a review. *Bioresource Technology*, 83(1) :1–11. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7.

Sánchez, J., Curt, M. D., Robert, N., and Fernández, J. (2019). Chapter two - biomass resources. In Lago, C., Caldés, N., and Lechón, Y., editors, *The Role of Bioenergy in the Bioeconomy*, pages 25–111. Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813056-8.00002-9.

TA, H. (1996). Pretreatment of biomass. *Handbook on bioethanol, production and utilization*, pages 179–212.

Taha, M., Foda, M., Shahsavari, E., Aburto-Medina, A., Adetutu, E., and Ball, A. (2016). Commercial feasibility of lignocellulose biodegradation : possibilities and challenges. *Current*

Opinion in Biotechnology, 38 :190–197. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.02.012.

Talebnia, F., Karakashev, D., and Angelidaki, I. (2010). Production of bioethanol from wheat straw : An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology*, 101(13) :4744–4753. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.080.

Tang, Y., Chandra, R. P., Sokhansanj, S., and Saddler, J. N. (2018). Influence of steam explosion processes on the durability and enzymatic digestibility of wood pellets. *Fuel*, 211 :87–94. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.09.053.

Tanpichai, S., Witayakran, S., and Boonmahitthisud, A. (2019). Study on structural and thermal properties of cellulose microfibers isolated from pineapple leaves using steam explosion. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(1) :102836. https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102836.

Tao, L., Aden, A., Elander, R. T., Pallapolu, V. R., Lee, Y., Garlock, R. J., Balan, V., Dale, B. E., Kim, Y., Mosier, N. S., et *al.* (2011). Process and technoeconomic analysis of leading pretreatment technologies for lignocellulosic ethanol production using switchgrass. *Bioresource technology*, 102(24) :11105–11114. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.051.

Teramura, H., Sasaki, K., Oshima, T., Kawaguchi, H., Ogino, C., Sazuka, T., and Kondo, A. (2018). Effective usage of sorghum bagasse : Optimization of organosolv pretreatment using 25% 1-butanol and subsequent nanofiltration membrane separation. *Bioresource Technology*, 252 :157–164. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.100.

Tian, S.-Q., Zhao, R.-Y., and Chen, Z.-C. (2018). Review of the pretreatment and bioconversion of lignocellulosic biomass from wheat straw materials. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 91 :483–489. https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.113.

Toor, M., Kumar, S. S., Malyan, S. K., Bishnoi, N. R., Mathimani, T., Rajendran, K., and Pugazhendhi, A. (2020). An overview on bioethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Chemosphere*, 242 :125080. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125080.

Ummalyma, S. B., Supriya, R. D., Sindhu, R., Binod, P., Nair, R. B., Pandey, A., and Gnansounou, E. (2019). Chapter 7 - biological pretreatment of lignocellulosic bio-

mass—current trends and future perspectives. In Basile, A. and Dalena, F., editors, *Second and Third Generation of Feedstocks*, pages 197–212. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815162-4.00007-0.

Van Dyk, J. and Pletschke, B. (2012). A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes—factors affecting enzymes, conversion and synergy. *Biotechnology Advances*, 30(6) :1458–1480. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.002.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B., and Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10) :3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J., and Boerjan, W. (2010). Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiology*, 153(3) :895–905. https://doi.org/10.1104/pp.110.155119.

Vaskan, P., Pachón, E. R., and Gnansounou, E. (2018). Techno-economic and life-cycle assessments of biorefineries based on palm empty fruit bunches in brazil. *Journal of cleaner production*, 172 :3655–3668. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.218.

Vegas, R., Alonso, J. L., Domínguez, H., and Parajó, J. C. (2005). Manufacture and refining of oligosaccharides from industrial solid wastes. *Industrial & engineering chemistry research*, 44(3) :614–620. https://doi.org/10.1021/ie049289.

Verardi, A., Lopresto, C. G., Blasi, A., Chakraborty, S., and Calabrò, V. (2020). Bioconversion of lignocellulosic biomass to bioethanol and biobutanol. In *Lignocellulosic biomass to liquid biofuels*, pages 67–125. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815936-1.00003-4.

Vicente, E., Vicente, A., Evtyugina, M., Tarelho, L., Almeida, S., and Alves, C. (2020). Emissions from residential combustion of certified and uncertified pellets. *Renewable Energy*, 161 :1059–1071. https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.07.118.

Wan, C. and Li, Y. (2011). Effectiveness of microbial pretreatment by ceriporiopsis subver-

mispora on different biomass feedstocks. *Bioresource Technology*, 102(16) :7507–7512. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.05.026.

Wang, Z., Dien, B. S., Rausch, K. D., Tumbleson, M., and Singh, V. (2018). Fermentation of undetoxified sugarcane bagasse hydrolyzates using a two stage hydrothermal and mechanical refining pretreatment. *Bioresource Technology*, 261 :313–321. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.018.

Woiciechowski, A. L., Neto, C. J. D., de Souza Vandenberghe, L. P., de Carvalho Neto, D. P., Sydney, A. C. N., Letti, L. A. J., Karp, S. G., Torres, L. A. Z., and Soccol, C. R. (2020). Lignocellulosic biomass : Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance–conventional processing and recent advances. *Bioresource technology*, 304 :122848. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122848.

Wu, X., Zhang, J., Xu, E., Liu, Y., Cheng, Y., Addy, M., Zhou, W., Griffith, R., Chen, P., and Ruan, R. (2016). Microbial hydrolysis and fermentation of rice straw for ethanol production. *Fuel*, 180 :679–686. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.04.087.

Wu, Y., Yang, W., and Blasiak, W. (2014). Energy and exergy analysis of high temperature agent gasification of biomass. *Energies*, 7(4) :2107–2122. https://doi.org/10.3390/en7042107.

Yang, H., Xie, Y., Zheng, X., Pu, Y., Huang, F., Meng, X., Wu, W., Ragauskas, A., and Yao, L. (2016). Comparative study of lignin characteristics from wheat straw obtained by soda-AQ and kraft pretreatment and effect on the following enzymatic hydrolysis process. *Bioresource Technology*, 207 :361–369. http://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2016.01.123.

Yao, L., Yang, H., Yoo, C. G., Pu, Y., Meng, X., Muchero, W., Tuskan, G. A., Tschaplinski, T., and Ragauskas, A. J. (2018). Understanding the influences of different pretreatments on recalcitrance of populus natural variants. *Bioresource Technology*, 265 :75–81. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.057.

Yu, Y., Wu, J., Ren, X., Lau, A., Rezaei, H., Takada, M., Bi, X., and Sokhansanj, S. (2022). Steam explosion of lignocellulosic biomass for multiple advanced bioenergy processes : A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 154 :111871. https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111871.

Yuan, W., Gong, Z., Wang, G., Zhou, W., Liu, Y., Wang, X., and Zhao, M. (2018a). Alkaline organosolv pretreatment of corn stover for enhancing the enzymatic digestibility. *Bioresource Technology*, 265 :464–470. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.038.

Yuan, Z., Li, G., and Hegg, E. L. (2018b). Enhancement of sugar recovery and ethanol production from wheat straw through alkaline pre-extraction followed by steam pretreatment. *Bioresource Technology*, 266 :194–202. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.065.

Yuan, Z., Wen, Y., and Li, G. (2018c). Production of bioethanol and value added compounds from wheat straw through combined alkaline/alkaline-peroxide pretreatment. *Bioresource Technology*, 259 :228–236. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.044.

Yue, P., Hu, Y., Tian, R., Bian, J., and Peng, F. (2022). Hydrothermal pretreatment for the production of oligosaccharides : A review. *Bioresource Technology*, 343 :126075. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126075.

Zabed, H. M., Akter, S., Yun, J., Zhang, G., Awad, F. N., Qi, X., and Sahu, J. N. (2019). Recent advances in biological pretreatment of microalgae and lignocellulosic biomass for biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 105(June 2018) :105–128. http://doi.org/10.1016/j.rser.2019.01.048.

Zahoor, Wang, W., Tan, X., Imtiaz, M., Wang, Q., Miao, C., Yuan, Z., and Zhuang, X. (2021). Rice straw pretreatment with koh/urea for enhancing sugar yield and ethanol production at low temperature. *Industrial Crops and Products*, 170 :113776. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113776.

Zhang, M., Eddy, C., Deanda, K., Finkelstein, M., and Picataggio, S. (1995). Metabolic engineering of a pentose metabolism pathway in ethanologenic zymomonas mobilis. *Science*, 267(5195) :240–243.

Zhang, Q., He, J., Tian, M., Mao, Z., Tang, L., Zhang, J., and Zhang, H. (2011). Enhancement of methane production from cassava residues by biological pretreatment using a constructed microbial consortium. *Bioresource Technology*, 102(19) :8899–8906. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.061.

Zhang, X.-Z. and Zhang, Y.-H. P. (2013). Cellulases : characteristics, sources, production, and applications. *Bioprocessing technologies in biorefinery for sustainable production of fuels, chemicals, and polymers*, pages 131–146. https://doi.org/10.1002/9781118642047.ch8.

Zhang, Y.-H. P. and Lynd, L. R. (2004). Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose : Noncomplexed cellulase systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 88(7) :797–824. https://doi.org/10.1002/bit.20282.

Zhang, Y. P. (2008). Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 35(5) :367–375. https://doi.org/10.1007/s10295-007-0293-6.

Zhao, L., Cao, G.-L., Wang, A.-J., Ren, H.-Y., Dong, D., Liu, Z.-N., Guan, X.-Y., Xu, C.-J., and Ren, N.-Q. (2012). Fungal pretreatment of cornstalk with phanerochaete chrysosporium for enhancing enzymatic saccharification and hydrogen production. *Bioresource Technology*, 114 :365–369. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.076.

Zhao, L., Sun, Z.-F., Zhang, C.-C., Nan, J., Ren, N.-Q., Lee, D.-J., and Chen, C. (2022a). Advances in pretreatment of lignocellulosic biomass for bioenergy production : Challenges and perspectives. *Bioresource Technology*, 343 :126123. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126123.

Zhao, L., Sun, Z. F., Zhang, C. C., Nan, J., Ren, N. Q., Lee, D. J., and Chen, C. (2022b). Advances in pretreatment of lignocellulosic biomass for bioenergy production : Challenges and perspectives. *Bioresource Technology*, 343 :126123. http://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.126123.

Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., and Li, Y. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, 42 :35–53. https://doi.org/10.1016/j.pecs.2014.01.001.

Zhou, H., sheng Cheng, J., Wang, B. L., Fink, G. R., and Stephanopoulos, G. (2012). Xylose isomerase overexpression along with engineering of the pentose phosphate pathway and evolutionary engineering enable rapid xylose utilization and ethanol production by saccharomyces cerevisiae. *Metabolic Engineering*, 14(6) :611–622. https://doi.org/10.1016/j.ymben.2012.07.011.

Zhu, J. and Jeffries, T. W. (2011). Dilute acid pretreatment of corncob for efficient sugar production. *Appl Biochem Biotechnol*, 163 :1658–668. https://doi.org/10.1007/s12010-010-9071-4.

Ziegler-Devin, I., Menana, Z., Chrusciel, L., Chalot, M., Bert, V., and Brosse, N. (2019). Steam explosion pretreatment of willow grown on phytomanaged soils for bioethanol production. *Industrial crops and products*, 140 :111722. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111722.

Annexe1 :Articles

sustainability

MDPI

Article

Field Study and Chemical Analysis of Plant Waste in the Fez-Meknes Region, Morocco

Ahmed Bendaoud [1,*], Amal Lahkimi [1], Mohammed Kara [2,*], Tarik Moubchir [3], Amine Assouguem [4,*], Abdelkhalek Belkhiri [5], Aimad Allali [6], Anouar Hmamou [1], Rafa Almeer [7], Amany A. Sayed [8], Ilaria Peluso [9] and Noureddine Eloutassi [1]

1 Laboratory of Engineering, Molecular Organometallic Materials and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, Morocco; amal.lahkimi@usmba.ac.ma (A.L.); anouar.hmamou@usmba.ac.ma (A.H.); noureddine.eloutassi@usmba.ac.ma (N.E.)
2 Laboratory of Biotechnology, Conservation and Valorisation of Naturals Resources (LBCVNR), Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, University Sidi Mohamed Ben Abdallah, Fez 30000, Morocco
3 Polyvalent Laboratory in Research and Development, Department of Biology, Poly Disciplinary Faculty, Sultan Moulay Slimane University, Beni-Mellal 23000, Morocco; MOUBCHIR.TARIK.fpb21@usms.ac.ma
4 Laboratory of Functional Ecology and Environment, Faculty of Sciences and Technology, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Imouzzer Street, Fez 30000, Morocco
5 Laboratory of Bioactives-Health and Environment, Faculty of Sciences Meknes, Meknes 50000, Morocco; abdelkhalek.belkhiri@gmail.com
6 Laboratory of Plant, Animal and Agro-Industry Productions, Faculty of Sciences, University of Ibn Tofail (ITU), Kenitra 14000, Morocco; aimad.allali@usmba.ac.ma
7 Department of Zoology, College of Science, King Saud University, P.O. Box 2455, Riyadh 11451, Saudi Arabia; ralmeer@ksu.edu.sa
8 Zoology Department, Faculty of Science, Cairo University, Giza 12613, Egypt; amanyasayed@sci.cu.edu.eg
9 Research Centre for Food and Nutrition, Council for Agricultural Research and Economics (CREA-AN), 00178 Rome, Italy; i.peluso@tiscali.it
* Correspondence: ahmedbendaoud@gmail.com (A.B.); mohammed.kara@usmba.ac.ma (M.K.); assougam@gmail.com (A.A.)

Abstract: Throughout the entire world, the biomass plant remains an important source of renewable energy. However, in Morocco, the energy recovery of this biomass is little or badly exploited compared to other solar, hydraulic, and wind resources. The aim of this study is to know the extent to which Moroccan companies are involved in the valorization of green waste and to identify among the latter those that have great energy and industrial value. The field investigation was carried out with the use of a questionnaire to different sectors of activity. The chemical analyses of the waste samples were carried out by different methods: Van Soest to investigate the fiber content, dinitrosalicylic acid and phenol-sulfuric acid to determine sugars, while the Folin–Ciocalteu method was employed for the determination of phenolic compounds. These are the ASTM standard methods to determine elemental, proximate composition, and calorific value (CV). The results of this survey showed that solid vegetable waste is diverse and represents 68.4% of the total green waste, of which 98% is not treated. Moreover, the chemical analysis displayed that forestry waste (FW), extracted parts wastes (EPW), and unused parts wastes (UPW) of medicinal and aromatic plants have high contents of cellulose (respectively 34.75, 48.44, and 54.19%) and hemicelluloses (28.44, 27.19 and 28.50%) and containing low amounts of lignin and phenolic compounds compared to olive waste (OW), olive pomace (OP), and household waste (HW). Almost all biomass wastes, except HW, have a low moisture (<12%), ash content less than 5.1%, a significant percentage of C and H, and CV between 14.5 and 21.6 MJ/Kg. The PCA analysis showed a discrepancy in terms of components between the set formed by FW, UPW, and EPW with other solid waste. In conclusion, FW, UPW, and EPW, specially can be potentially energetic biomass and valorized together in the form of a mixture.

Keywords: biomass; plant waste; renewable energy; lignocellulosic components; biomass resources

check for updates

Citation: Bendaoud, A.; Lahkimi, A.; Kara, M.; Moubchir, T.; Assouguem, A.; Belkhiri, A.; Allali, A.; Hmamou, A.; Almeer, R.; Sayed, A.A.; et al. Field Study and Chemical Analysis of Plant Waste in the Fez-Meknes Region, Morocco. *Sustainability* **2022**, *14*, 6029. https://doi.org/10.3390/su14106029

Academic Editors: Nana Peng and Chao Gai

Received: 30 March 2022
Accepted: 10 May 2022
Published: 16 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

JEE Journal of Ecological Engineering

Journal of Ecological Engineering 2023, 24(4), 376–383
https://doi.org/10.12911/22998993/160094
ISSN 2299–8993, License CC-BY 4.0

Received: 2023.01.07
Accepted: 2023.01.31
Published: 2023.03.01

Simple and Combined Pretreatment of a Mixture of Forestry and Aromatic-Medicinal Plant Waste by Chemical, Physical and Enzymatic Methods

Ahmed Bendaoud[1*], Abdelkhalek Belkhiri[2], Mohamed Maai[3], Tarik Moubchir[3], Anouar Hmamou[1], Sara Tlemcani[4], Noureddine Eloutassi[1], Amal Lahkimi[1]

[1] Laboratory of Engineering, Electrochemistry, Modelization and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, Morocco
[2] Laboratory of Bioactives-Health and Environment, Faculty of Sciences Meknes, Meknes 50000, Morocco
[3] Polyvalent Laboratory in Research and Development, Department of Biology, Poly Disciplinary Faculty, Sultan Moulay Slimane University, Beni-Mellal 23000, Morocco
[4] Laboratory of Environmental Biotechnology, Agri-food, Health Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Faculty of Sciences, Fez, Morocco
* Corresponding author's email: ahmed.bendaoud1@usmba.ac.ma

ABSTRACT

Forestry waste (FW) extracted parts ofmedicinal-aromatic plant waste (EPW) and unused parts (UPW) are considered potential resources for energy recovery (their heating value of approximately 19 MJ/kg).In order to valorize lignocellulosic biomass, a pretreatment process is required to hydrolyze the recalcitrant lignocellulosic complex into fermentable simple sugars. The aim of this study is to determine the best method of pretreatment that takes into account treatment time, efficiency, and environmental friendliness. The mixture of FW, EPW, and UPW was treated by simple and combined treatment using different methods like acid sulfuric (Ac), steam explosion (SE), and enzymatic (E) (cellulase and hemicellulase).The results showed that the combined and simple Ac treatments are the mostefficient compared with SE and E treatments in the hydrolysis of polysaccharide of cellulose with a rate respectively of 90.5% and 77.6% and hemicellulose with a rate respectively of 80.63% and 87.14%. In addition, both of the preceding methods release an important rate of total phenolic compounds. Combined treatment demands high time but is friendly (approximately 1 day), and Ac treatment is less time-consuming (about 25 min) but harmful to the environment and causes the corrosion of equipment.In conclusion, combined treatment can be the best method and the high time required can be reduced with the progress of the research.

Keywords: biomass; lignocellulosic complex; pretreatment; cellulose; plant waste.

INTRODUCTION

In Africa, the demand for energy has increased for the past 10 years, as energy consumption has grown from 15.99 Ej in 2010 to 18.58 Ej in 2019 with a rate of development per annum of 2.5% (Statistical Review of World Energy, 2021). Moreover, the enhancing depletion of fossil fuels and their disadvantages on health and the environment derived from greenhouse gas emissions leads to a search for alternative sourcesof renewable energy like lignocellulosic biomass. This is a potential source to produce second-generation bioethanol and biomethane (Grippi et al., 2020).

Despite the availability of plant biomass and its richness in organic matter, mainly cellulose and hemicellulose (Bendaoud et al., 2022). Their valorization requires a pretreatment step that constitutes more than 40% of the total processing cost of the biomass conversion process (Sindhu et al., 2016). During this pretreatment step to degrade recalcitrant lignocellulosic complex, which, lignin is the major barrier to accessing the polysaccharides; cellulose, and hemicellulose and hydrolyze it into fermentable simple sugars for bioenergy production (Zabed et al., 2019)

Among the most common methods used in the pretreatment of lignocellulosic biomass are

Optimization of Lignocellulosic Enzyme production by Microbial Strains: Study of Kinetics and Environmental Influences

Bendaoud A.*, Hmamou A., Moussaoui F., Eloutassi N. and Lahkimi A.
Laboratory of Engineering, Electrochemistry, Modelization and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, MOROCCO
*ahmed.bendaoud1@usmba.ac.ma

Abstract

In the context of valorizing lignocellulosic biomass for biofuel production a mixture of forest residues (FW) and aromatic-medicinal plant wastes (AMPW) was considered in this study to assess its ability to support the production of cellulolytic enzymes by Aspergillus niger, Trichoderma longibrachiatum and Zymomonas mobilis.

The residue mixture promoted growth and cellulase production by the microbial strains after 6 days of incubation. Enzymatic activity was determined using filter paper activity (FPase) and endoglucanase carboxymethylcellulase (CMase) assays. Optimization of enzymatic activity was investigated at pH levels (2, 4, 6, 8), various temperatures (22°C, 30°C, 37°C, 45°C) and different inoculum rates (1.5 × 107, 2 × 107 and 2.5 × 107 spores per gram of substrate). Maximum enzymatic activity was observed in Aspergillus niger with FPase and CMCase yields of 23.12 ± 0.1 and 29.78 ± 0.15 U/gds respectively. The highest enzymatic activity was recorded at temperatures of 30°C and 37°C, pH levels of 4 and 6 and with an inoculum rate of 2.5 × 107. The selection of the strain and the optimization of operational conditions are crucial for efficient enzymatic production in the context of biorefinery.

Keywords: Cellulase, Lignocellulosic biomass, Biofuel, Endoglucanase, Filter paper activity.

Introduction

Forest residues (FW) and waste from aromatic and medicinal plants (AMPW) represent significant raw materials in the Fes-Meknes region of Morocco that can be transformed into energy products (bioethanol, biogas) and biomaterials[4,5,9]. The primary constituents of this lignocellulosic biomass including cellulose (30 to 45%), hemicellulose (25 to 35%), lignin (10 to 25%) and assorted other compounds, collectively make up these residues[28,35,40].

The bioconversion process plays a central role, as it facilitates the transition from pretreated lignocellulosic biomass, considered as raw material, to the creation of final products with high added value. On one hand, the goal is to release and convert sugars previously trapped in lignocellulose into biofuels, notably ethanol. However, it is imperative to emphasize that this bioconversion stage is dependent on the prior production of lignocellulolytic enzymes[16,21].

These enzymes are responsible for deconstructing the complex structure of lignocellulose and their efficiency is crucial for the success of the entire process. Enzymes play a fundamental role in cellulose decomposition, thereby releasing sugars that will serve as raw material for ethanol production. This preparatory phase is an essential pre-requisite for the success of the conversion process, highlighting the interdependence and complementarity between enzyme production and biofuel production stages.

The hydrolysis of the lignocellulosic complex can be manipulated by various microorganisms including *Aspergillus niger*[37], *Bacillus pumilus*[2], *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*[1], *Trichoderma reesei*[38], *Pseudomonas sp*[39], *Zymomonas mobilis*[24], *Phanerochaete chrysosporium*[22], *Penicillium echinulatum*[36] and *Aspergillus Phoenicis*[38]. These microorganisms secrete various enzymes including cellulases to break down polysaccharides into fermentable monosaccharides. This process involves three key enzymes: exoglucanase (EC 3.2.1.19), facilitating the release of cellobiose from cellulose ends; endoglucanase (EC 3.2.1.4), responsible for the non-selective hydrolysis of cellulose chains; and β-glucosidase (EC 3.2.1.37), directing the conversion of cellobiose into glucose[10, 37].

Researchers are actively engaged in collaborative efforts to investigate a range of lignocellulosic residues[17,18] for the production of cellulases. Among the lignocellulosic residues are apple pomace [12], oil palm empty fruit bunches[1], coir pith[19], sugarcane bagasse[25], grape pomace [13], switchgrass, corn stover[41], corn cobs and rice husk[3]. The cost-effective utilization of these abundantly available residues has a significant part in reducing the overall production costs of enzymes, given that raw materials contribute 40 to 60% of the total production cost[38]. In this perspective, it remains imperative to explore various lignocellulosic residues to develop efficient fermentation media for cellulase production, thereby paving the way for broader industrial applications.

This study aimed to evaluate the efficiency of a mixture of forest residues and waste from aromatic and medicinal plants

**** Author for Correspondence***

JEE Journal of Ecological Engineering

Journal of Ecological Engineering 2024, 25(10), 353–362
https://doi.org/10.12911/22998993/191748
ISSN 2299–8993, License CC-BY 4.0

Received: 2024.07.11
Accepted: 2024.08.21
Published: 2024.09.01

Efficient Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass Using Diverse Microbial Strains

Ahmed Bendaoud[1*], Abdelkhalek Belkhiri[2], Anouar Hmamou[1], Sara Tlemcani[1], Noureddine Eloutassi[1], Amal Lahkimi[1]

[1] Laboratory of Engineering, Electrochemistry, Modelization and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, Morocco

[2] Laboratory of Bioactives-Health and Environment, Faculty of Sciences Meknes, Meknes 50000, Morocco

* Corresponding author's e-mail: ahmed.bendaoud1@usmba.ac.ma

ABSTRACT

Forestry residues (FR) and medicinal-aromatic plant waste (MAPW) are considered potential resources for energy recovery. In this context, we explore the bioethanol production potential of three microbial strains *Aspergillus niger*, *Zymomonas mobilis*, and *Trichoderma longibrachiatum* using this lignocellulosic hydrolysate as a substrate. The blend of FR and MAPW was pretreated by different methods like acid sulfuric (AS), steam explosion (SE), and enzymatic (E). The ethanol yield was measured by gas chromatography (GC). *Zymomonas mobilis* demonstrated the highest ethanol yield of 5.95% on untreated substrate. Conversely, *Aspergillus niger* exhibited peak performance with an ethanol yield of 10.78% following AS, SE and E combined pretreatment. *Trichoderma longibrachiatum*, yielded ethanol ranging from 1.27% to 2.47%. Furthermore, the use of immobilized *d'Aspergillus niger* strains revealed a small decrease in ethanol yield from 11.34% in the first cycle to only 5.02% in the sixth cycle. In conclusion, *Aspergillus niger* emerges as a promising candidate due to its dual functionality in pretreatment and ethanol fermentation, offering pathways for advancing sustainable biofuel technologies.

Keywords: biomass, bioethanol, lignocellulosic biomass, *Aspergillus niger*, *Zymomonas mobilis*, *Trichoderma longibrachiatum*, pretreatment, fermentation.

INTRODUCTION

Concern for our environment and anxiety related to our dependence on imported oil have rekindled interest in fuels (bioethanol and biogas) and chemicals derived from plants. Fuel production from plant materials supports CO_2-neutral energy production (Antoni et al., 2007; Eloutassi, 2014b). Lignocellulosic biomass, such as forestry residues and waste from aromatic and medicinal plants (Bendaoud 2022; Bendaoud, 2023), are substrates that can be used to produce biofuel. The microbial conversion of sugars derived from plant biomass includes a variety of processes using various microorganisms and enzymes to produce ethanol (Yerizam., 2023).

The yeast *Saccharomyces cerevisiae* is used worldwide as the main ethanol-producing microorganism. Despite its widespread use, it has several disadvantages such as high aeration costs, high biomass production, low tolerance to temperature and ethanol (Saigal, 1993). Consequently, several microorganisms have been tested for ethanol production in recent years. Among these are strains of *Aspergillus niger, Trichoderma longibrachiatum*, and *Zymomonas mobilis*.

Aspergillus niger is a mold widely exploited commercially in various fermentation techniques to produce useful enzymes such as pectinase, lactase, cellulase, and amylase (Gautam et al., 2011; Sheng Xue et al., 2018). *Aspergillus niger* is also capable of consuming and converting other lignocellulose-derived compounds, such as acetic acid (Alhadithy., 2023), furanic aldehydes, and phenolic compounds, which are known as inhibitors of ethanolic fermentation. Similarly, *Trichoderma*

Tropical Journal of Natural Product Research
Official Journal of the Natural Product Research Group
Faculty of Pharmacy, University of Benin 300001, Benin City, Nigeria
Phone: +2348073184488, Email: editor.tjnpr@gmail.com; editor.tjnpr@uniben.edu; Website: www.tjnpr.org

ISSN: 2616-0684 (Print); 2616-0692 (Online), DOI: 10.26538/tjnpr, ISI IF: 0.562 (2017)
Abstracted/Indexed: Index Copernicus ICV (2017): 59.83, Open-J-Gate, EMBASE, EBSCO Host, WorldCat, AJOL, CrossRef (USA), JIF, NCBI (PubMed), CAS

SCOPUS indexed, SCImago SjR 0.16

Laboratory of Engineering, Electrochemistry, Modelization and Environment, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, Sidi Mohamed Ben Abdallah University, Fez 30000, Morocco.

Ref. No.as25421/4092.2
5th August 2024

Dear Dr Ahmed Bendaoud,

Provisional Acceptance letter for Article Manuscript Number TJNPR MH261ARN

Title: *Comparative Analysis of Pretreatment Techniques for Lignocellulosic Biomass Valorization into Bioethanol: A Case Study in the Fes-Meknes Region*

Authors: Ahmed Bendaoud*, Abdelkhalek Belkhiri, Anouar Hmamou, Sara Tlemcani, Fatima Moussaoui, Noureddine Eloutassi, Amal Lahkimi

I am pleased to inform you that your manuscript sent to the Tropical Journal of Natural Product Research has been reviewed and recommended for publication as a research article. However, before the issues raised by the Reviewers are forwarded, to enable you correct your manuscript, accordingly, please pay a publication charge of **$ USD280**. The actual publication of the paper will be in the upcoming issue (**Vol 8 issue 8, 2024**). Authors are responsible for all bank charges.
Please, the manuscript number (**TJNPR MH261ARN**) should be included in the bank transfer.

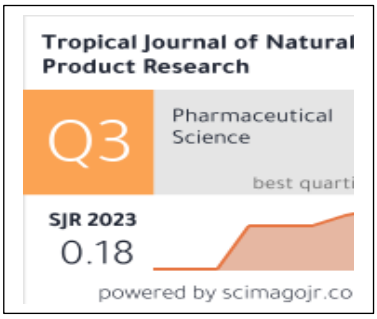
Congratulations.

The money should be remitted in favour of:

Name of account: Abiodun FALODUN
Bank Name: Access Bank Plc
Account Number:1456136521.
Sort Code: 044040699
Swift code: ABNGNGLA
Address of Bank: Ransome Kuti Road, University of Benin, Benin City, Edo State, Nigeria

Sincerely,

Professor A. Falodun, PhD, FAAS
Editor-in-Chief



Editor-in-Chief: Professor Abiodun Falodun, PhD (Nigeria) Fulbright Fellow, USA
Associate Editors: Professor Dr Peter Langer PhD Hannover (Germany)
Professor FO Ekhaise, PhD Bayreuth (Germany)

Annexe2 :Questionnaire

FACULTÉ DES SCIENCES DHAR EL MAHRAZ
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

LABORATOIRE D'INGÉNIERIE DES MATÉRIAUX ORGANO-MÉTALLIQUES, MOLÉCULAIRES ET ENVIRONNEMENT

Questionnaire sur les types de déchets verts et leur traitement

Le questionnaire auquel vous êtes cordialement invités.es à répondre, rentre dans le cadre du sujet de thèse doctorale visant à rechercher les nouvelles ressources d'énergie renouvelable et de biomatériaux à base de la biomasse végétale. Son objectif est de **recueillir des informations à propos des types des déchets verts rejetés et leur traitement** par les unités industrielles.

En répondant à ce questionnaire, mesdames, messieurs, vous participez d'une part à profiter de ces déchets verts gaspillés, et d'une autre part à protéger l'environnement.

Les résultats et les informations de cette enquête restera anonymes et sera utiliser dans la recherche scientifique.

L'équipe de recherche vous remercie pour l'intérêt que vous porterez à ce questionnaire.

Axe 1 : Informations générales :

Age **: ...**..... Sexe : ☐ Homme ☐ Femme

Niveau d'instruction : .....

Usine/établissement : ☐ privé ☐ public ☐ Économie Sociale et Solidaire

Année de création : .....

Ville : .....

Région : .....

Activité : .....

Axe 2 : Types de déchets et leur traitement

1. quel type de biomasse végétale utilisez-vous dans la production :

   ☐ Bois ☐ graines et fruits ☐ feuilles ☐ mélange de biomasse

2. la matière première existe-elle d'une quantité suffisante dans le marché : ☐ Oui ☐ Non

Si oui quelle est son origine ?.....

3. quel type d'extrait utilisé de cette biomasse dans la production.

☐Huiles essentielles ☐ huiles alimentaires☐ Cellulose ☐ hémicellulose ☐ Autre : veuillez préciser :

.....

.....

4. existe-elle une aire de décharge de déchets au sein de votre établissement : ☐ Oui ☐ Non

5. quels sont les types de déchets rejetés par votre établissement

☐ Liquides ☐ solides ☐ Solides et liquides

6. par quels moyens vous quantifiez les déchets

☐ Par des organismes de traitement des déchets ☐ Par des pesages ☐ indéterminé

7. Combien approximativement (en tonne) la quantité de déchets rejetées ? :

.....

8. existe-elle une organisation de la gestion des déchets dans votre établissement ? ☐Oui ☐Non

Si oui :

- Pour quels déchets : .....
- Par quel traitement : .....

9. Le traitement de déchets pour vous représente :

☐ Une Importance environnementale ☐ un enjeu économique ☐n'a pas d'importance

10. Y a-t-il des acteurs économiques locaux qui voudraient recycler et traiter les déchets verts produits ? ☐ Oui ☐ Non

11. avez-vous une idée sur l'économie circulaire : ☐ Oui ☐ Non

12. A votre avis, quelles sont en général les difficultés rencontrées par l'industrie pour traiter et de profiter de leur déchet :

☐ Le coût élevé du traitement

☐ Le manque de matériels

☐ Le faible bénéfice

☐ Autre