

Aspects pratiques relevant d'études sur celluloses modèles

Production de glucose et de
cellobiose

C. Vanderghem, N. Jacquet, M. Paquot



VALBIOM, 21 octobre 2009

1

Facteurs limitant

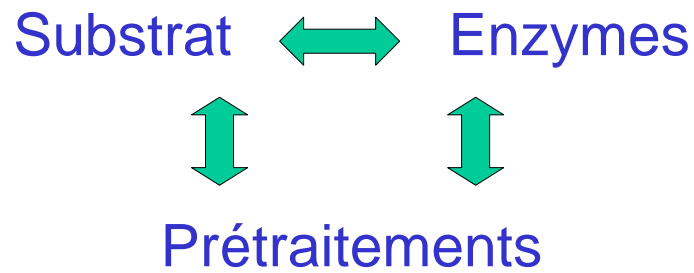
Coût

- Enzymes
- Pré-traitements
- Composés non cellulosiques
- ...



VALBIOM, 21 octobre 2009

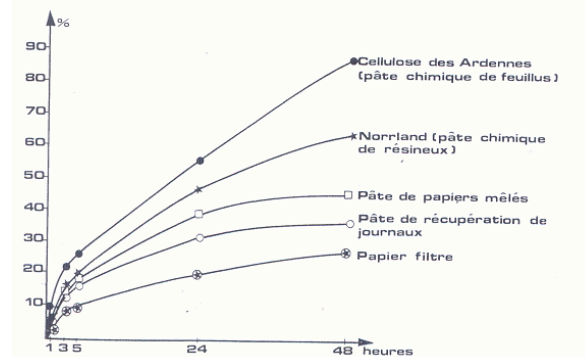
2



VALBIOM, 21 octobre 2009

3

La cellulose est-elle un problème?



VALBIOM, 21 octobre 2009

4

Celluloses modèles

Microcristalline FD 100

- Formes: particules
- Indice de cristallinité 80%
- Pureté: 98%
- Rétention H₂O: 74%



VALBIOM, 21 octobre 2009

5

Cellulose C-200

- Formes: fibres
- Indice de cristallinité: 55%
- Pureté 98%
- Rétention H₂O: 66%

Pâte à papier

- Formes: fibres
- Indice de cristallinité: 50%
- Pureté: 90%
- Rétention H₂O: 97%

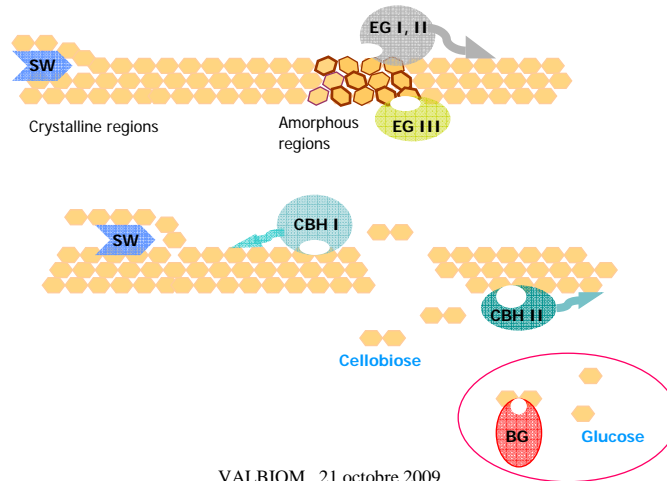


VALBIOM, 21 octobre 2009

6

Choix de l'enzyme

» **Choix de l'enzyme:** Celluclast 1.5L (*Trichoderma reesei* QM 9414)



VALBIOM, 21 octobre 2009

7

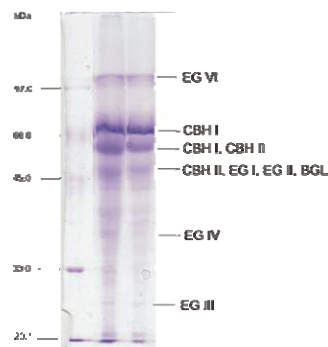
Selon la littérature* *T. reesei*

CBH I -40 à 60%

CBH II - 12 à 20%

EG I - 5 à 10%

EG II - 1 à 10%



*(Rosgaard et al. 2007; Shoemaker et al., 1983; Tolan and Foody, 1999)



VALBIOM, 21 octobre 2009

8

Cas 1: Production du glucose



VALBIOM, 21 octobre 2009

9

Amélioration des rendements et de la cinétique d'hydrolyse



VALBIOM, 21 octobre 2009

10

Gestion des activités enzymatiques
Prétraitements mécaniques – Voie humide
Maîtrise de la rhéologie
Rétention d'eau

VALBIOM, 21 octobre 2009

11

**Gestion des activités
enzymatiques**

VALBIOM, 21 octobre 2009

12

Ajout de β -glucosidase

Hydrolyse enzymatique de la cellulose régénérée

Paquot M. et Thonart Ph.

Holzforschung, 36, 177-181, 1982



VALBIOM, 21 octobre 2009

13

Prétraitements mécaniques Voie humide

VALBIOM, 21 octobre 2009

14

Raffinage

Hydrolyse enzymatique de pâtes de papeterie. Influence des traitements mécaniques

Thonart Ph., Paquot M. et A. Mottet

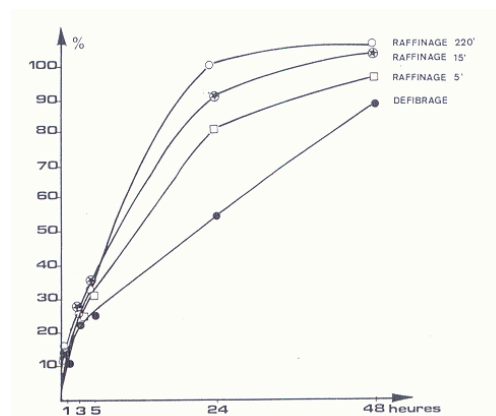
Holzforschung, 33, 197-202, 1979

Fig 2. P 199



VALBIOM, 21 octobre 2009

15



VALBIOM, 21 octobre 2009

16

Homogénéisation



VALBIOM, 21 octobre 2009

17

Caractérisation (M.O.) des fibres de cellulose C200 homogénéisées (400 – 500 bars, 50 passages)



→ Homogénéisation
400-500 bars



Résultat M.O. : Echelle 50
µm

Fibres
Longueur : 250 µm
Diamètre : 30 µm

Résultat M.O. : Echelle 50
µm

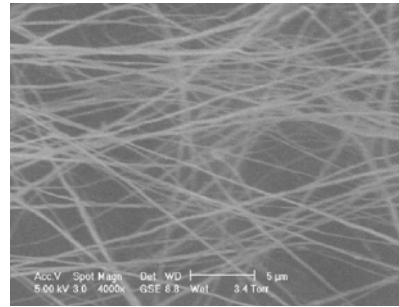
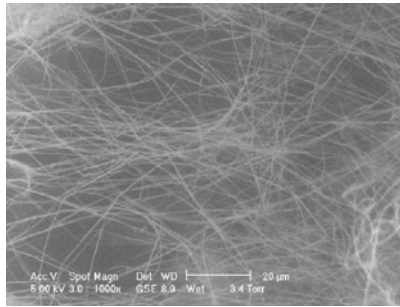
Longueur : 30 µm



VALBIOM, 21 octobre 2009

18

Microphotographies ESEM des fibrilles de cellulose



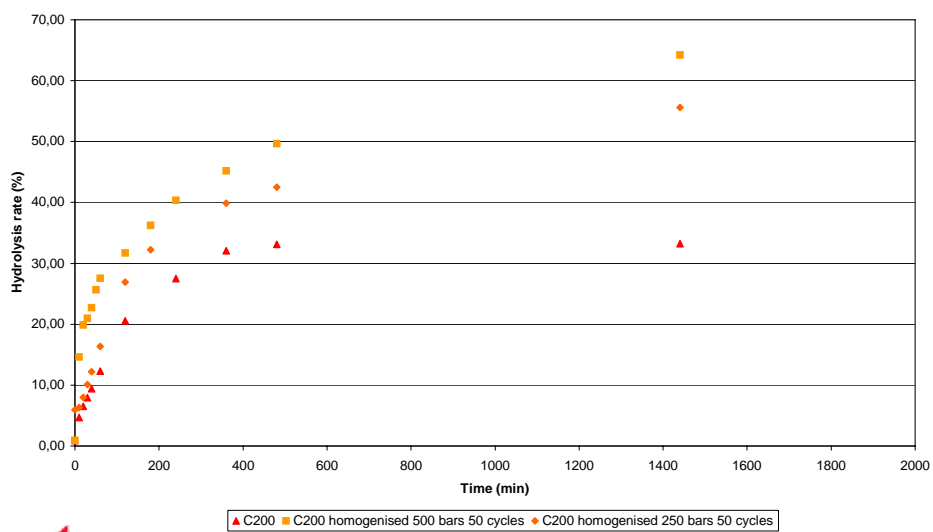
Cellulose Alfabibre C200 traitée par homogénéisation : 400-500 bars ; 50 passages



VALBIOM, 21 octobre 2009

19

Influence de l'intensité du cisaillement appliqué au cours de l'homogénéisation sur les cinétiques d'hydrolyse des fibres de cellulose C200



VALBIOM, 21 octobre 2009

20

Maîtrise de la rhéologie

VALBIOM, 21 octobre 2009

21

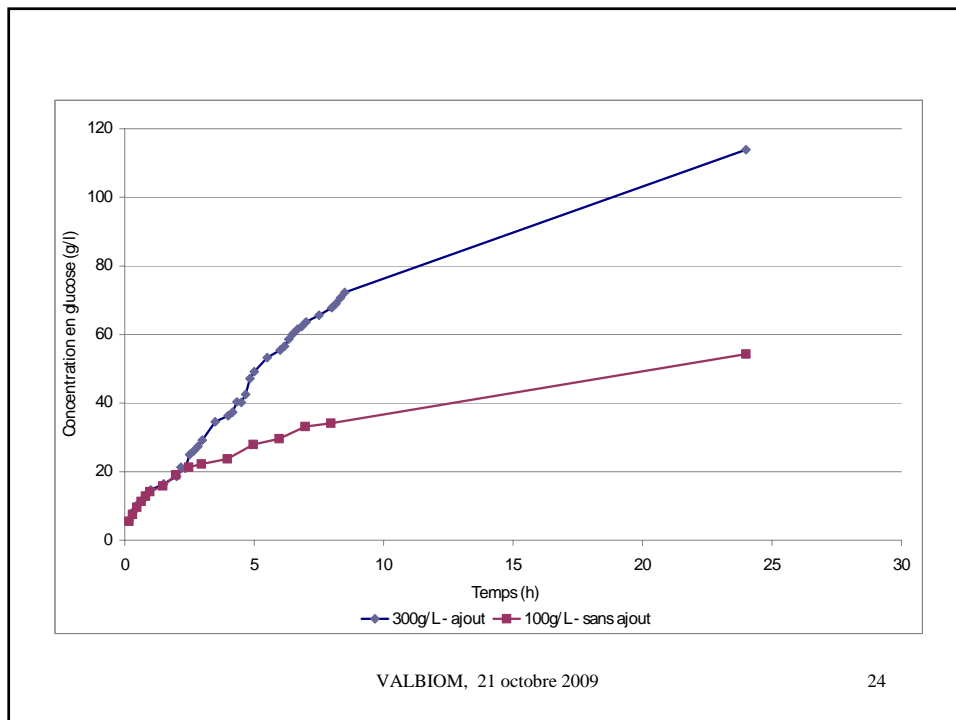
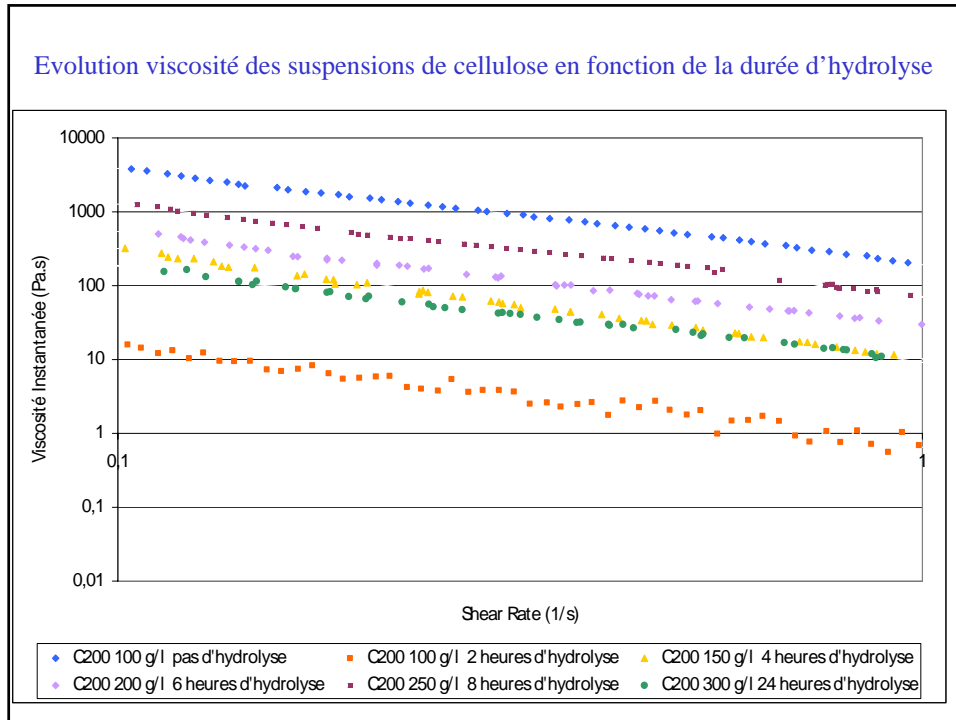
Accroissement de la concentration en sucres dans l'hydrolysat

Accroissement de la concentration en cellulose ↔ Rhéologie



VALBIOM, 21 octobre 2009

22



Rétention d'eau

VALBIOM, 21 octobre 2009

25

Lavage du substrat résiduel



VALBIOM, 21 octobre 2009

26

Lavage

Hydrolyse 300 g/l ajout

Masse de cellulose dans 100 ml (g) 28,32

	Concentration (g/l)	Volume (ml)	glucose produit (g)	Taux d'hydrolyse (%)
1er run	115,1	100	11,51	40,7
Lavage 1	66,0	30	1,98	7,0
Lavage 2	24,0	30	0,72	2,5
Lavage 3	3,3	30	0,10	0,4
Lavage 4	1,1	30	0,03	0,1
Total			14,35	50,7

VALBIOM, 21 octobre 2009

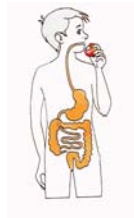
27

Cas 2: Production de cellobiose



Esters de cellobiose

→ formulations cosmétiques, pour épaissir et structurer un liquide immiscible dans l'eau
(Franklin et al., 2002)



Prébiotique (?)

(Nakamura et al., 2004)

...



VALBIOM, 21 octobre 2009

28

**Accroissement du taux
d'hydrolyse et de la pureté**

VALBIOM, 21 octobre 2009

29

Gestion des activités enzymatiques
Gestion du process
Valorisation des co-produits

VALBIOM, 21 octobre 2009

30

Gestion des activités enzymatiques

VALBIOM, 21 octobre 2009

31

 Pas d'ajout de β -glucosidase

VALBIOM, 21 octobre 2009

32

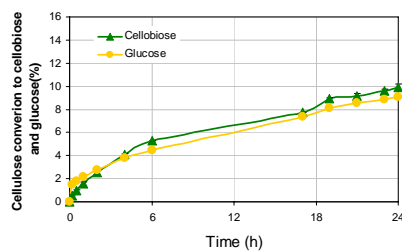
Gestion du process

VALBIOM, 21 octobre 2009

33

Procédé traditionnel

- Rendement de l'hydrolyse en continu sur 24h



Cellulose 9,9%

Glucose 9,1%

Faible rendement dû à deux facteurs:

- Inhibition des cellulases par le cellobiose et le glucose formé dans le milieu
- Les cellobiases pourraient hydrolyser le cellobiose en glucose



VALBIOM, 21 octobre 2009

34

Amélioration du procédé d'hydrolyse: Procédé multi-stades

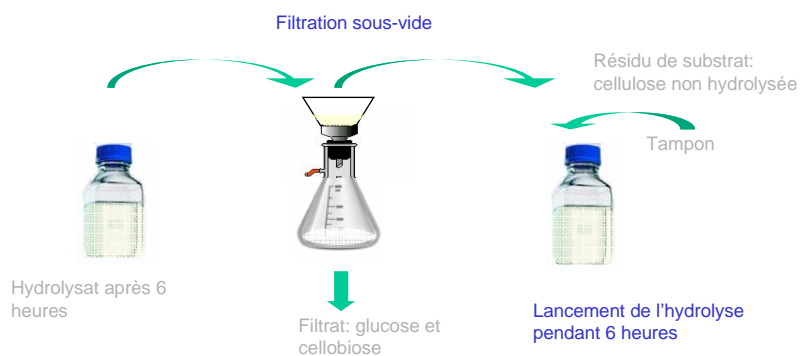
– Hydrolyse en 24 h en quatre étapes de 6 heures

Le principe est de séparer les produits de l'hydrolyse (glucose et cellobiose) au fur et à mesure de l'hydrolyse sur 24 heures.



VALBIOM, 21 octobre 2009

35



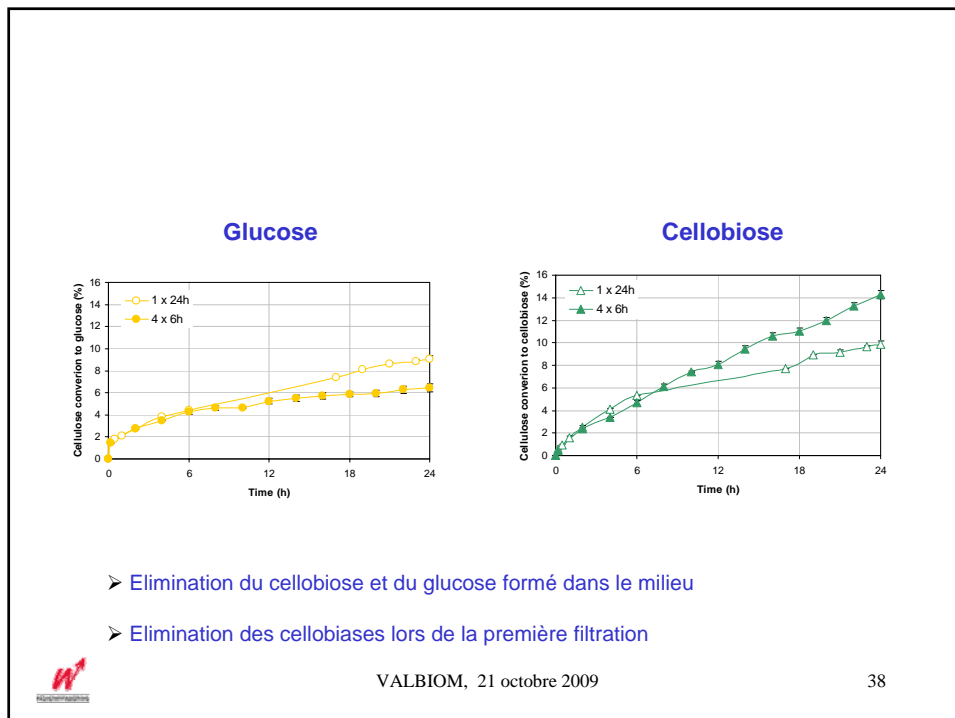
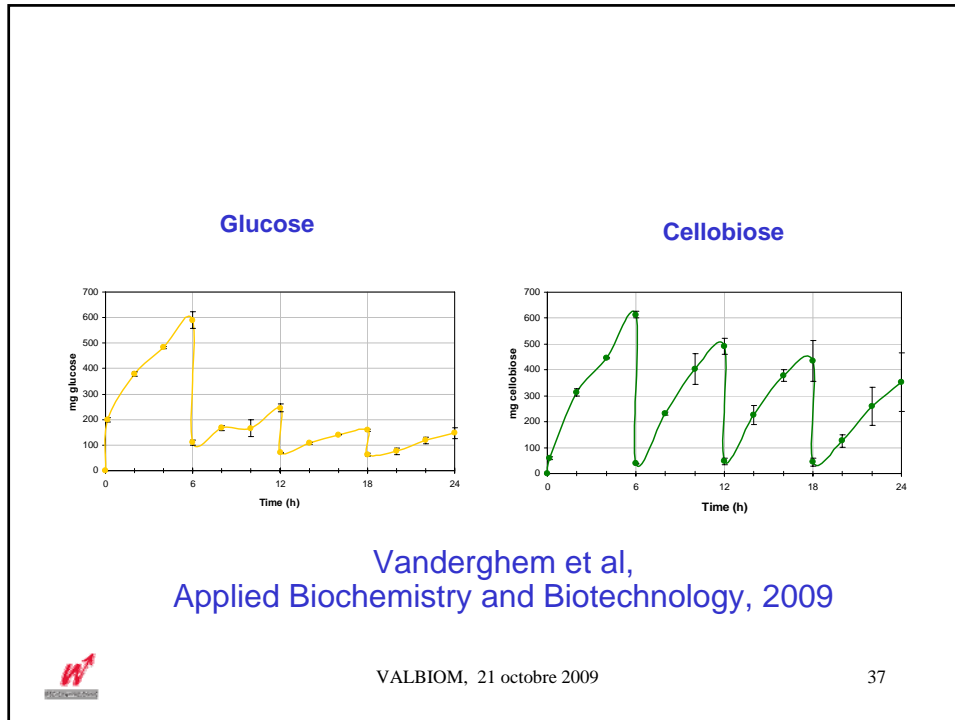
→ En filtrant l'hydrolysats. On obtient d'un côté les produits d'hydrolyse le glucose et le cellobiose et d'un autre côté le restant de cellulose non-hydrolysée.

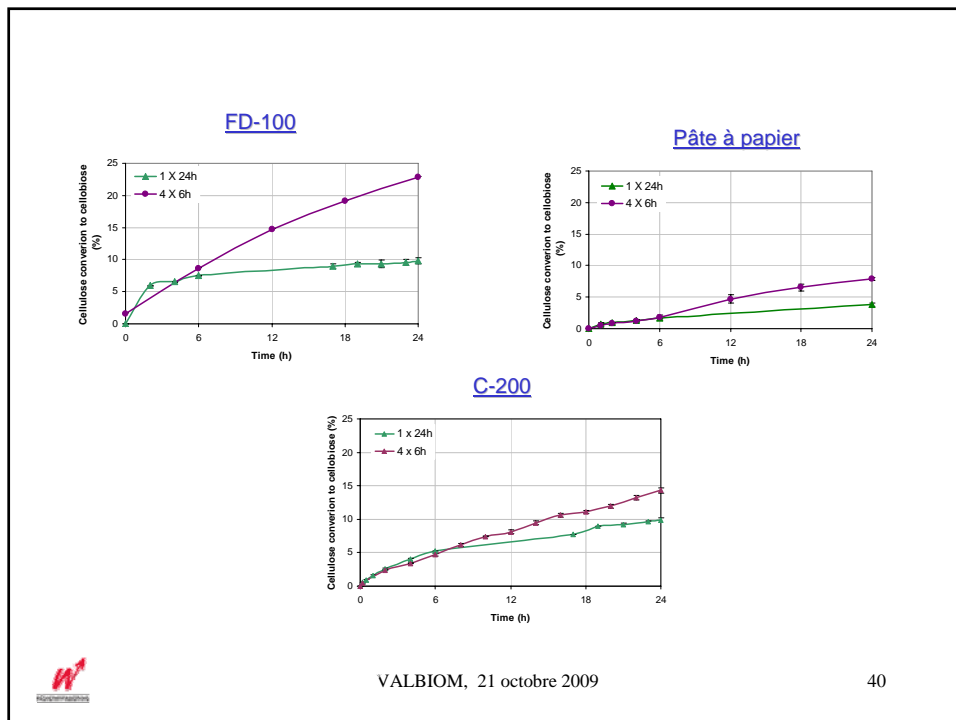
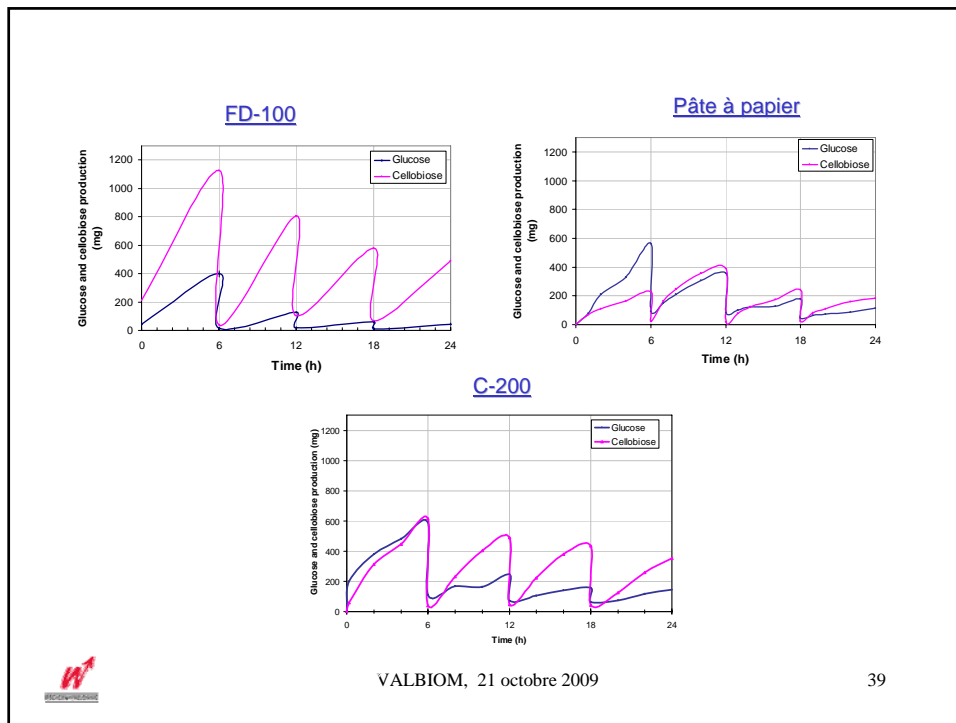
→ L'hydrolyse est relancée avec la cellulose résiduelle, sans ajout d'enzymes.



VALBIOM, 21 octobre 2009

36





Valorisation des co-produits

VALBIOM, 21 octobre 2009

41

Elimination du glucose

 Acide gluconique

Process for the production of a composition, the composition
and the use there-of as food additive

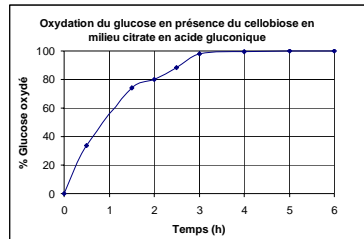
Brevet européen déposé le 19 janvier 2009, n°09150869.7



VALBIOM, 21 octobre 2009

42

Résultats



➡ Conversion à 99,9% du glucose en acide gluconique en 3h30

➡ L'acide gluconique peut être récupéré par chromatographie d'échange d'ions



WP1

VALBIOM, 21 octobre 2009

43

Aspects pratiques / perspectives

ENZYMES

Réduire coût enzymes

Récupération des enzymes – maintien des activités
Management des activités

Hydrolyse et fermentation



VALBIOM, 21 octobre 2009

44

SUBSTRAT

Coût de la cellulose
Surface spécifique
Management du process - rhéologie
Recyclage / lavage

PRE-TRAITEMENTS

Cellulose → surface spécifique, hydratation,
fibrillation

Autres constituants

BIORAFFINAGE



VALBIOM, 21 octobre 2009

45

Remerciements

Programme d'excellence TECHNOSE
Projet LIGNOFUEL



VALBIOM, 21 octobre 2009

46