



UNIVERSITÉ DE
SHERBROOKE

Faculté de génie
Département de génie chimique et biotechnologique

OPTIMISATION DE L'EXTRACTION, EN RÉACTEUR « BATCH », DE BIOMASSE ÉNERGÉTIQUE À L'AIDE D'ÉMULSIONS ULTRASONIQUES DE SOLVANTS VERTS

Mémoire de maîtrise
Spécialité : génie chimique

Bénédicte GÉLÉBART

Jury: Jean-Michel LAVOIE, PhD (directeur)
Martin DÉSILETS, Ing (rapporteur)
Xavier DURET, PhD
Olivier LALONDE, MSc

*À mes parents, ma famille et mes amis,
À tous ceux qui m'ont aidée et soutenue lors de ce projet,
Merci pour tout.*

*« Ce qui compte c'est pas la force des coups que tu donnes,
c'est le nombre de coups que tu encaisses tout en continuant d'avancer. »
(Rocky Balboa)*

RÉSUMÉ

L'industrie des biocarburants de deuxième génération utilise, entre autre, la biomasse lignocellulosique issue de résidus forestiers et agricoles et celle issue de cultures énergétiques. Le sorgho sucré [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] fait partie de ces cultures énergétiques. L'intérêt croissant de l'industrie agroalimentaire et des biocarburants pour cette plante est dû à sa haute teneur en sucres (jusqu'à 60% en masse sèche). En plus de se développer rapidement (en 5-6 mois), le sorgho sucré a l'avantage de pouvoir croître sur des sols pauvres en nutriments et dans des conditions de faibles apports en eau, ce qui en fait une matière première intéressante pour l'industrie, notamment pour la production de bioéthanol.

Le concept de bioraffinerie alliant la production de biocarburants à celle de bioénergies ou de bioproduits est de plus en plus étudié afin de valoriser la production des biocarburants. Dans le contexte d'une bioraffinerie exploitant la biomasse lignocellulosique, il est nécessaire de s'intéresser aux différents métabolites extractibles en plus des macromolécules permettant la fabrication de biocarburants et de biocommodités. Ceux-ci pouvant avoir une haute valeur ajoutée et intéresser l'industrie pharmaceutique ou cosmétique par exemple. Les techniques classiques pour extraire ces métabolites sont notamment l'extraction au Soxhlet et par macération ou percolation, qui sont longues et coûteuses en énergie. Ce projet s'intéresse donc à une méthode d'extraction des métabolites primaires et secondaires du sorgho sucré, moins coûteuse et plus courte, permettant de valoriser économiquement l'exploitation industrielle de cette culture énergétique. Ce travail au sein de la CRIEC-B a porté spécifiquement sur l'utilisation d'une émulsion ultrasonique eau/carbonate de diméthyle permettant de diminuer les temps d'opération (passant à moins d'une heure au lieu de plusieurs heures) et les quantités de solvants mis en jeu dans le procédé d'extraction. Cette émulsion extractive permet ainsi de solubiliser à la fois les métabolites hydrophiles et ceux hydrophobes. De plus, l'impact environnemental est limité par l'utilisation de solvants respectueux de l'environnement (80 % d'eau et 20 % de carbonate de diméthyle). L'utilisation de deux systèmes d'extraction a été étudiée. L'un consiste en la recirculation de l'émulsion, en continu, au travers du lit de biomasse; le deuxième permet la mise en contact de la biomasse et des solvants avec la sonde à ultrasons, créant l'émulsion et favorisant la sonolyse de la biomasse.

Ainsi, en réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion eau/DMC, à $370 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, au sein du lit de biomasse, l'extraction est de 37,91 % en 5 minutes, ce qui est supérieur à la méthode ASTM D1105-96 (34,01 % en 11h). De plus, en réacteur « batch – piston », où la biomasse est en contact direct avec les ultrasons et l'émulsion eau/DMC, les meilleurs rendements sont de 35,39 % en 17,5 minutes, avec 15 psig de pression et 70 % d'amplitude des ultrasons.

Des tests effectués sur des particules de sorgho grossières ont donné des résultats similaires avec 30,23 % d'extraits en réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion (5 min , $370 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) et 34,66 % avec le réacteur « batch-piston » (30 psig, 30 minutes, 95 % d'amplitude).

Mots-clés : Carbonate de diméthyle, Émulsion, Éthanol cellulosique, Extraction, Sorgho sucré, Ultrasons.

REMERCIEMENTS

Je remercie M. Olivier Lalonde, du CÉROM, pour avoir gracieusement fourni la biomasse utilisée lors de ce projet et pour avoir accepté d'être jury pour mon mémoire. Vos remarques et commentaires ont toujours été constructifs. Un grand merci également au professeur Martin Désilets pour avoir accepté le rôle de rapporteur pour l'évaluation de mon mémoire.

Merci à Kévin Louis et Xavier Duret pour m'avoir supervisée et orientée pour ce projet.

Je tiens également à remercier Amina Nait Sidi Ahmed de CRB Innovations pour sa bonne humeur et son aide tout au long de ma maîtrise.

Merci à tous ceux de la Chaire de Recherche Industrielle sur l'Éthanol Cellulosique et les Biocommodités (CRIEC-B), post-doctorants, doctorants, étudiants à la maîtrise, stagiaires, techniciens. Je remercie en particulier Joey Labranche, François Gambier, Marine Gautier, James Kong Win Chang, Ingrid Rocio Zamboni Corredor, Joanie Lessard, Emmanuelle Bahl et Thierry Ghislain. Merci aux employés de CRB Innovations et Fractal Systems : Luc Gilbert et Dany Lacasse.

Merci à Marc-Antoine Lauzon pour son aide avec les analyses statistiques de mes résultats.

Merci à Isabelle Arsenault, Valérie Larouche, Serge Gagnon et Marc Couture de l'Université de Sherbrooke.

Merci à tous ceux qui m'ont aidée et soutenue, de quelque manière que ce soit.

Un GRAND merci à mes amis et ma famille pour avoir toujours été présents pour moi pendant ce projet.

SOMMAIRE

RÉSUMÉ	i
REMERCIEMENTS	ii
SOMMAIRE.....	iii
LISTE DES FIGURES	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
ACRONYMES	ix
LEXIQUE	xi
Chapitre 1 : Introduction	1
Chapitre 2 : État de l’art, définitions et généralités	10
I. Les biocarburants.....	11
II. Le sorgho (<i>Sorghum bicolor</i>)	14
II. 1. Généralités	14
II. 2. Constitution	14
II. 3. Utilisations du sorgho sucré.....	18
III. Le diméthyle carbonate.....	19
IV. La pertinence d'aller chercher les extractibles avant d'utiliser la plante pour produire des biocarburants.....	21
V. Méthodes d'extraction des métabolites secondaires	21
V. 1. Techniques conventionnelles.....	22
V. 2. Techniques non-conventionnelles	23
V. 2. a Extractions assistée par enzymes (EAE)	23
V. 2. b Extraction par champs électrique pulsé (CEP)	24
V. 2. c Extractions par fluides supercritiques (SFE)	24
V. 2. d Extraction par fluides pressurisés (PFE) et explosion à la vapeur	25
V. 2. e Extraction assistée par Micro-ondes (MAE)	25
V. 2. f L’extraction assistée par ultrasons (UAE) et émulsions ultrasoniques	26
V. 3. Résumé des avantages et inconvénients des différentes méthodes d’extraction des métabolites de la biomasse	29

Chapitre 3 : Développement, Résultats et Discussion..... 31

I. Matériel et méthode.....	32
I. 1. Sorgho sucré	32
I. 2. Solvants utilisés	33
I. 3. La méthode ASTM D1105-96 et les extraction avec l'extracteur Soxhlet	33
I. 4. Réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion	35
I. 5. Réacteur « batch – piston ».....	37
I. 6. Détermination de l'efficacité de l'extraction.....	39
I. 6. a Pourcentage d'humidité en base sèche de la biomasse	39
I. 6. b Masse sèche initiale de la biomasse et rendements d'extraction	40
I. 6. c Masse d'extraits secs et rendements d'extraction.....	40
I. 6. d Traitements post-extraction de la biomasse.....	41
I. 6. e Traitements post-extraction des solvants.....	42
I. 7. Analyses par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	42
I. 8. Analyses statistiques.....	43
I. 8. a Réplicats	43
I. 8. b Plan d'expérience pour le réacteur « batch-piston ».....	43
I. 8. c Analyses statistiques des résultats	45
II. Résultats et interprétations.....	46
II. 1. Extractions en extracteur Soxhlet	46
II. 1. a Méthode ASTM D1105-96.....	46
II. 1. b Efficacité des différents solvants	48
II. 1. c Efficacité du mélange eau/DMC (80/20 v/v) par rapport à la méthode ASTM D115-96.....	52
II. 1. d Influence de la taille des particules du sorgho sucré sur l'efficacité extractive du mélange eau/DMC (80/20 v/v)	54
II. 1. e Conclusion.....	56
II. 2. Extractions en réacteur « batch » avec recirculation du liquide extracteur	57
II. 2. a Potentiel d'extraction de l'eau et du DMC	57
II. 2. b Influence des ultrasons pendant la recirculation de l'émulsion eau/DMC (80/20 v/v).....	60
II. 2. c Influence du temps de recirculation de l'émulsion	62
II. 2. d Influence de la taille des particules de sorgho utilisées	63
II. 2. e Analyses FTIR du sorgho	64
II. 2. f Comparaison des extractions par macération et en Soxhlet.....	65
II. 3. Extractions en réacteur « batch - piston ».....	66
II. 3. a Résultats	66

II. 3. b	Validation du modèle prédictif et identification des paramètres significatifs.....	68
II. 3. c	Détermination des paramètres optimisant l'extraction	71
II. 3. d	Surfaces de réponses.....	72
II. 3. e	Comparaison de l'efficacité du réacteur « batch-piston » aux autres méthodes	81
II. 4.	Application sur le saule	82
II. 4. a	Extractions en Soxhlet.....	83
II. 4. b	Extractions avec le réacteur « batch - piston »	85
II. 5.	Tests sur des micro-algues.....	86

Chapitre 4 : Conclusion et Perspectives 87

Annexes 93

Annexe A :	Protocole de détermination de la masse sèche de la verrerie.....	94
Annexe B :	Protocole de détermination de la masse sèche de la biomasse	94
Annexe C :	Protocole de détermination du pourcentage d'extraction obtenu par perte de masse de la biomasse.....	95
Annexe D :	Protocole de détermination du pourcentage d'extraction par extraits secs obtenus après extraction.....	96
Annexe E :	Protocole d'utilisation du lyophilisateur	97
Annexe F :	Protocole d'extraction ASTM D1105-96 - standard test method for preparation of extractive-free wood	98
Annexe G :	Procédure d'utilisation du réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion.....	100
Annexe H :	Procédure d'utilisation du réacteur « batch - piston »	102
Annexe I :	Surfaces de réponse pour les extractions en batch-piston avec le sorgho de 250-425 µm	105
Annexe J :	Surface de réponse pour les extractions en batch-piston avec le sorgho brut.....	108

Bibliographie..... 111

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 : Différentes origines de biomasses pour les bioraffineries.....	11
Figure 2.2 : Agencement des composés structuraux principaux d'une plante lignocellulosique.....	15
Figure 2.3 : Molécule de cellulose (n répétitions de la molécule de cellobiose)	15
Figure 2.4 : Sorgho sucré.....	18
Figure 2.5 : Différentes voies de valorisation du sorgho sucré.....	18
Figure 2.6 : Molécule de farnésène	19
Figure 2.7 : Formation de carbonate de diméthyle à partir de phosgène	20
Figure 2.8 : Formation de carbonate de diméthyle à partir de CO ₂ et de méthanol.....	20
Figure 2.9 : Exemple de domaine d'application des ultrasons en fonction de la fréquence et de la longueur d'onde	27
Figure 2.10 : Évolution d'une bulle de cavitation	29
Figure 2.11 : Impact de l'implosion d'une bulle de cavitation à la surface d'une cellule végétale	29
Figure 3.1 : Sorgho brut.....	32
Figure 3.2 : Sorgho broyé (250-425 µm).....	32
Figure 3.3 : Schéma d'un montage d'extraction Soxhlet.....	33
Figure 3.4 : PFD du montage du réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion.....	35
Figure 3.5 : Sonde vissée à la cellule de recirculation.....	36
Figure 3.6 : Tamis et joint aux extrémités du corps du réacteur	36
Figure 3.7 : Corps du réacteur	36
Figure 3.8 : PFD du réacteur « batch »-piston.....	37
Figure 3.9 : Réacteur « batch » d'extraction de biomasse	39
Figure 3.10 : Tête du réacteur.....	39
Figure 3.11 : Représentation d'un plan composite centré.....	43
Figure 3.12 : Efficacité (%) de la méthode d'extraction ASTM D1105-96 en fonction de la durée des étapes.....	46
Figure 3.13 : Efficacité (%) des extractions en Soxhlet avec différents solvant, en 30 minutes et 4h d'extraction après le premier siphonage (sorgho sucré, 250-425µm)	49
Figure 3.14 : Comparaison d'efficacité (%) de la méthode ASTM D115-96 à l'extraction en Soxhlet au mélange eau/DMC (80/20 v/v), en 30 minutes et 4 heures par étapes, sur du sorgho sucré (250-425 µm)	52
Figure 3.15 : Comparaison l'efficacité (%) de l'extraction en Soxhlet du mélange eau/DMC (80/20 v/v) en fonction de la taille des particules du sorgho sucré, en 30 minutes et en 4h d'extraction.....	55
Figure 3.16 : Rendements d'extraction (%) à l'eau, débit de 370 mL/min, sorgho sucré (250-425 µm et brut), température de 21-23°C.....	57
Figure 3.17 : Rendements d'extraction (%) au DMC, débit de 370 mL/min, sorgho sucré (250-425 µm et brut), température de 18-21°C.....	59

Figure 3.18 : Efficacité (%) de l'extraction en réacteur « batch » avec recirculation du mélange eau/DMC (80/20 v/v), en 30 minutes, avec ou sans ultrasons pendant la recirculation (sorgho sucré de 250-425 μm), température de 27-29 °C.....	61
Figure 3.19 : Efficacité (%) de l'extraction du mélange eau/DMC (80/20 v/v) en fonction du temps de recirculation (débit de 370 mL/min), sur du sorgho sucré 250-425 μm , température de 26-30 °C	63
Figure 3.20 : Efficacité (%) de l'extraction du mélange eau/DMC (80/20 v/v) en fonction du temps de recirculation (débit de 370 mL/min), sorgho brut, température de 26-30 °C.....	64
Figure 3.21 : Spectres FTIR du sorgho sucré avant et après extraction au mélange eau/DMC (80/20 v/v)	65
Figure 3.22 : Comparaison des résultats prédits et des résultats expérimentaux obtenus.....	70
Figure 3.23 : Surface de réponse (Design Expert) pour les rendements en DMC du sorgho de 250-425 μm après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)	74
Figure 3.24 : Surface de réponse (Design Expert) pour les rendements en phase aqueuse du sorgho de 250-425 μm après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)	75
Figure 3.25 : Surface de réponse (Design Expert) pour la perte de masse du sorgho de 250-425 μm après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)	76
Figure 3.26 : Surface de réponse (Design Expert) pour les rendements en DMC du sorgho brut après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)	78
Figure 3.27 : Surface de réponse (Design Expert) pour les rendements en phase aqueuse du sorgho brut après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)	79
Figure 3.28 : Surface de réponse (Design Expert) pour la perte de masse du sorgho brut après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)	80
Figure 3.29 : Rendements des extractions (%) de saule (250-425 μm) par la méthode ASTM D1105-96	83
Figure 3.30 : Rendements d'extraction (%) au DMC (6h) puis à l'eau (5h) en Soxhlet, saule 250-525 μm	84
Figure 3.31 : Rendements de l'extraction (%) en Soxhlet au mélange eau/DMC (80/20 v/v) (6 h), saule 250-425 μm	84
Figure 3.32 : Rendements des extractions (%) au mélange eau/DMC (80/20 v/v) (1 h), en réacteur « batch –piston », sans pression interne, saule 250-425 μm	85

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1: Composition structurale du sorgho en fonction de sa nature	14
Tableau 2.2 : Applications possibles des hémicelluloses	16
Tableau 2.3: Composition du sorgho sucré	17
Tableau 2.4 : Propriétés physico-chimiques du carbonate de diméthyle	19
Tableau 2.5 : Avantages et inconvénients des méthodes conventionnelles d'extraction des métabolites de la biomasse.....	29
Tableau 2.6 : Avantages et inconvénients des méthodes non-conventionnelles d'extraction des métabolites de la biomasse.....	30
Tableau 3.1 : Les solvants utilisés et leurs affinités avec les molécules.....	33
Tableau 3.2 : Traitement post-extraction de la biomasse pour chaque type d'extraction.....	41
Tableau 3.3 : Traitements post-extraction des solvants pour chaque type d'extraction	42
Tableau 3.4 : Valeurs des paramètres testés en réacteur « batch-piston »	43
Tableau 3.5 : Plan d'expérience des extractions en « batch - piston » sur le sorgho sucré, avec le mélange eau/DMC (80/20 v/v)	44
Tableau 3.6 : Analyses statistiques des résultats des extractions suivant la méthode ASTM.....	47
Tableau 3.7 : Analyses statistiques des différences entre les pertes de masse du sorgho et les extraits secs correspondants	49
Tableau 3.8 : Analyses statistiques des différences entre extraits secs en 30 minutes et en 4 heures.....	50
Tableau 3.9 : Résultats des extractions en « batch – piston » sur le sorgho sucré, avec le mélange eau/DMC (80/20 v/v)	67
Tableau 3.10 : Coefficients des différents facteurs en fonction de la réponse étudiée	69
Tableau 3.11 : Résultats des expériences avec les paramètres d'optimisation par le logiciel JMP	71
Tableau 3.12 : Résultats des expériences avec les paramètres d'optimisation par le logiciel Design Expert.....	72

ACRONYMES

% et %m = Pourcentage, pourcentage massique. Les pourcentages indiqués dans ce rapport font toujours référence à des pourcentages massiques.

ANOVA = Analysis of Variance, analyse de la variance

ASTM = American Society for Testing and Materials, association élaborant des normes internationales pour le monde scientifique et industriel (<http://www.astm.org/>)

cPs = Centipoise, unité de viscosité

CRIEC-B = Chaire de Recherche Industrielle sur l'Éthanol Cellulosique et les Biocommodités.

D = Debye, unité du moment dipolaire.

DMC : Carbonate de diméthyle, solvant organique

EAE = Extraction assistée par enzyme

FIRSST = Feedstock Impregnation Rapid and Sequential Steam Treatment

FTIR = spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier

G = Force centrifuge

g = Gramme

g/cm^3 = unité de densité

MAE = Extraction assistée par micro-ondes

$\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ = Millilitre par minute

CEP = Extraction assistée par champ électrique pulsé

PFD = Process flow diagram, Diagramme de flux de processus

PFE = Extraction par fluides pressurisés

psig = Mesure une pression relative à la pression atmosphérique. 0 psig correspond donc à la pression atmosphérique. psi = livre-force par pouce carré (lbf/in^2). 1 psi = 6.895 Pascals.

R&D = Recherche et Développement

RSD = Relative standard deviation (en anglais), représente le rapport de l'écart-type sur la moyenne, exprimé en pourcentage. Permet d'évaluer la reproductibilité des essais.

SFE = Extraction par fluides supercritiques

tMS.ha⁻¹ = tonne de masse sèche par hectar

UAE = Extraction assistée par ultrasons

LEXIQUE

Dessiccation : séchage d'un produit pour en retirer l'eau

Lyophilisation : dessiccation d'un produit par sublimation d'un solvant

Mesh : mesure de maille d'un tamis (convention américaine)

R² : coefficient de détermination du modèle, permet de vérifier la force du modèle à prédire les résultats

Réacteur batch : réacteur discontinu ou fermé, sans entrée ni sortie lors de l'utilisation

Solvant vert : non toxique, ou d'origine renouvelable, ou produit via des techniques respectueuses de l'environnement, ou toute combinaison d'une ou plusieurs de ces caractéristiques.

Sonolyse : destruction des cellules à l'aide d'ondes ultrasonores permettant de libérer le matériel intra-cellulaire dans le milieu extra-cellulaire.

Sublimation : passage d'un corps de l'état solide à l'état gazeux.

Valeur-p: P-value en anglais, valeur utilisée pour conclure sur le résultat d'un test statistique. La valeur-p est comparée à un seuil préalablement défini, ici 0,05. Si la valeur-p est inférieure à ce seuil, le résultat du test est déclaré « statistiquement significatif ». La différence entre les résultats étudiés est donc significative. Dans le cas où la valeur-p est supérieure au seuil, on ne peut rien conclure quant aux hypothèses formulées. La différence entre les résultats analysés est donc considérée ici comme non significative.

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION

L'intérêt de la population pour les énergies renouvelables grandit de plus en plus, notamment pour des raisons environnementales. L'aspect économique est également à prendre en considération avec un prix du baril de pétrole aux alentours de 100 \$ de 2011 à 2014 avant une chute des prix en 2015 et 2016 aux alentours de 50 \$ le baril [Prix du baril, consulté en mai 2016].

Comme alternative aux énergies d'origine fossile, l'exploitation de la biomasse lignocellulosique, matière première abondante et renouvelable, représente l'une des ressources les plus prometteuses pour l'industrie des biocarburants [Saidi, 2011]. Cependant, la production de biocarburants de deuxième génération, pour être rentable face aux carburants d'origine fossile, doit résoudre différents challenges. Parmi ceux-ci, il est possible de citer les coûts des matières premières, l'augmentation des rendements des procédés de prétraitement de la biomasse ou l'amélioration des technologies de bio-traitements tels que l'utilisation d'enzymes [Sun et Cheng, 2002; Aresta *et al*, 2012], ou encore la réduction des coûts d'investissements et d'opérations. Pour faire le lien entre la première et la deuxième génération de biocarburants, et pour pallier à ces problèmes de rentabilité, la notion de génération 1.5 est parfois utilisée. Certains, comme Madson (2012), définissent la génération 1.5 par l'utilisation de procédés conventionnels pour convertir de nouvelles sources de sucres, dont la cellulose, en bioéthanol. Parmi ces nouvelles biomasses, il fait mention du triticale, du sorgho grain, de l'orge ou encore de la patate douce. Pour Kang (2014), la génération 1.5 concerne la production de bioéthanol à partir de sucre et d'amidon ne provenant pas des graines de la plante, et mentionne l'utilisation du sorgho sucré. Deux compagnies, ICM Inc (2013 et 2016) et DuPont (page consultée en juillet 2016), parlent de génération 1.5 pour leur production d'éthanol à partir de fibres de grains de maïs. La compagnie ICM Inc. (2013 et 2016), basée à Colwich au Kansas (États-Unis d'Amérique), a ainsi développé un procédé de transformation des fibres de grains de maïs en éthanol cellulosique, « Generation 1.5: Grain Fiber to Cellulosic Ethanol Technology™ », utilisant les installations existantes pour la production d'éthanol. Ce procédé utilise à la fois des méthodes mécaniques, chimiques et biotechnologiques pour broyer, séparer les fibres et les huiles et produire de l'éthanol à partir des fibres récupérées. DuPont (page consultée en juillet 2016) utilise quant à lui des enzymes, « OPTIMASH® enzymes », pour obtenir des sucres à cinq et six carbones à partir des fibres des grains. Enfin, au Québec, la Chaire de Recherche Industrielle sur l'Éthanol Cellulosique et les Biocommodités, CRIEC-B, en partenariat avec

l'entreprise CRB Innovations, a développé un procédé d'explosion à la vapeur de la biomasse, appelé « Feedstock Impregnation Rapid and Sequential Steam Treatment », ou FIRSST. Celui-ci permet, en une seule étape, la séparation des sucres libres de la biomasse tout en fractionnant la matrice lignocellulosique pour obtenir des fibres de cellulose de petite taille qui pourront par la suite être hydrolysées pour obtenir des sucres fermentescibles. Une deuxième étape est ensuite nécessaire pour extraire la lignine en milieu basique [Lavoie *et al.*, 2011].

Alliée à la production de biocarburants, la notion de bioraffinerie devient de plus en plus commune. À partir des composés carbonés issus de la biomasse utilisée comme matière première, les bioraffineries permettent la production de biocarburants, de bioénergies et de bioproduits, tels que des produits chimiques ou des biomatériaux [Cherubini, 2010; Ragauskas *et al.*, 2006]. Par le biais de multiples procédés, la biomasse est ainsi transformée en ses éléments constitutifs, tels les lipides, les glucides, les molécules phénoliques, etc. Ceux-ci servent ensuite à la production de bioéthanol, de biodiesel ou encore de molécules ayant des fins pharmaceutiques, cosmétiques ou nutraceutiques [Budzianowski et Postawa, 2016; Cherubini, 2010; Ragauskas *et al.*, 2006]. La viabilité de ses installations repose sur l'exploitation de l'ensemble de la chaîne de valeur, soit de la production/transformation de la biomasse à la distribution des produits finis, minimisant ainsi les coûts d'exploitation [Budzianowski et Postawa, 2016]. Plusieurs industries peuvent ainsi se combiner, les résidus ou co-produits de l'une pouvant être exploités par une autre en tant que matière première, et ainsi de suite, pour former un complexe de bioraffinerie intégrée et auto-suffisante [Cherubini, 2010]. Les coûts d'opération, les coûts énergétiques et les impacts environnementaux, comme les émissions de gaz à effet de serre, peuvent ainsi être réduits considérablement par l'alliance de différentes bio-industries [Budzianowski et Postawa, 2016]. Certaines études récentes portent ainsi sur la production de biodiesel couplée à celle de bioéthanol à partir de ricin [Bateni et Karimi, 2016] ou sur la production de bioéthanol à partir de résidus lignocellulosiques associée au traitement de résidus agro-industriels [Sanchez *et al.*, 2016]. L'association de ces industries pourrait ainsi permettre de rentabiliser la production de biocarburants de génération 1.5 ou de deuxième génération par rapport aux carburants d'origine fossile.

La biomasse utilisée en bioraffineries peut provenir de cultures dédiées ou de résidus agricoles, de résidus forestiers, de déchets industriels ou municipaux ou encore de l'aquaculture [Cherubini, 2010]. Le choix de la matière première utilisée est fonction des disponibilités, de la

constitution de celle-ci et des produits finaux désirés [Budzianowski et Postawa, 2016]. Les composés riches en glucides, comme la canne à sucre ou le maïs, permettent la production d'éthanol. Les matières premières riches en lipides, comme le tournesol, servent à produire du biodiesel. Enfin, les résidus mélangés, tels les déchets urbains, peuvent produire du biogaz par digestion anaérobie [Cherubini, 2010]. La biomasse lignocellulosique, étant une matière première abondante et renouvelable, représente l'une des alternatives les plus prometteuses pour l'industrie des biocarburants et des bioproduits [Bennett et Anex, 2009] et pourrait ainsi être intéressant pour un concept de bioraffinerie.

Dans le cas d'une bioraffinerie utilisant la biomasse lignocellulosique, l'exploitation des métabolites primaires et secondaires, présents en plus ou moins grande quantité dans la biomasse, pourrait aider à la rentabilité d'une telle bioraffinerie, qui exploite les sucres cellulosiques et hémicellulosiques pour produire des biocarburants [Borredon *et al.*, page consultée en octobre 2014; Deglise et Donnot, 2004; Lavoie *et al.*, 2009; Sjöström, 1981]. Les procédés de production d'éthanol cellulósique peuvent avoir recours à des étapes de prétraitements afin d'extraire ces métabolites [Lavoie *et al.*, 2009; Luo *et al.*, 2002]. Parmi ces métabolites, les molécules aromatiques, les aldéhydes, les furanes ou encore les acides aliphatiques peuvent inhiber la fermentation des sucres cellulósiques et hémicellulosiques [Nichols *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2011]. En fonction de leur nature, ces extractibles peuvent trouver des applications dans l'industrie cosmétique, pharmaceutique ou nutraceutique. C'est notamment le cas de l'acide salicylique issu du saule. Ce composé phénolique présente des propriétés anti-pathogènes pour les plantes. Il est également connu en santé humaine, notamment pour sa capacité à inhiber la synthèse de prostaglandines et pour ses propriétés anti-inflammatoires [Randjelović *et al.*, 2015]. Ces produits à haute valeur ajoutée sont donc des atouts non-négligeables pour la rentabilité d'une bioraffinerie de deuxième génération [Nahrstedt *et al.*, 2007; Lavoie et Stevanovic, 2007]. De plus, les cultures énergétiques, dédiées à la production d'énergies renouvelables présentent un impact économique et environnemental intéressant [Koçar et Civaş, 2013]. En fonction de la nature de la plante, celle-ci sera utilisée pour produire de l'éthanol, du biodiesel, de la chaleur ou de l'énergie. Le sorgho, le panic érigé et le miscanthus, ou herbe à éléphant, font partie de ces cultures énergétiques. Elles ont la capacité à croître sur des sols pauvres tout en limitant la compétition avec les cultures alimentaires comme le maïs qui ne peuvent pas toujours croître sur ce type de sol [Koçar et

Civaş, 2013]. Le sorgho est d'ailleurs utilisé pour la production d'éthanol mais aussi de biogaz [Koçar et Civaş, 2013; Zhang *et al.*, 2016]. Plus particulièrement, le sorgho sucré fait partie des cultures énergétiques à prendre en considération dans un contexte de bioraffinerie. Sa croissance rapide, de 3 à 6 mois, qui peut se faire sur sols pauvres en nutriments et avec un faible apport en eau, et sa teneur en sucre dans la tige et en amidon dans les grains, en fait un très bon candidat pour la production de bioéthanol. De plus sa production peut être totalement industrialisée et les résidus fibreux peuvent servir de fourrage ou pour la production de chaleur [Koçar et Civaş, 2013]. Des études ont également démontrées que le sorgho sucré pouvait contenir des molécules utilisées en pharmaceutique. Les composés phénoliques du sorgho sucré montrent ainsi une action sur la prolifération et l'apoptose des cellules cancéreuses du colon [Massey *et al.*, 2014; Massey *et al.*, 2016]. La présence de composés phénoliques permet au sorgho d'avoir des propriétés antioxydantes pouvant également être utilisés en pharmaceutiques [Massey *et al.*, 2014]. Ainsi, Massey *et al.* (2014) ont pu identifier plusieurs composés d'intérêt dans le sorgho sucré, tels que l'acide vanillique, l'acide *p*-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'apigénine ou encore la lutéoline. L'acide vanillique, utilisé en agroalimentaire, peut coûter jusqu'à 135 \$ les 100 g chez Sigma Aldrich. La même compagnie, propose les standards pharmaceutiques d'acides caféique et férulique au prix respectifs de 437 \$ les 15 mg et 454 \$ les 25 mg. L'acide *p*-coumarique, l'apigénine et la lutéoline coûtent quant à eux, pour un standard analytique, 75 \$ les 50 mg, 211 \$ les 10 mg et 282 \$ les 10 mg respectivement. Ces deux derniers composés peuvent servir à lutter contre le cancer du colon [Massey *et al.*, 2014]. Afin d'extraire ces métabolites d'intérêt, la biomasse doit subir des prétraitements avant d'être convertie en biocarburants. Les techniques de traitement de la biomasse sont diverses. Il peut s'agir de procédés chimiques (hydrolyse, transestérification), thermochimiques (gazéification, pyrolyse), biochimiques (fermentation, digestion anaérobique) ou mécaniques (broyage, séparation) [Cherubini, 2010; Ragauskas *et al.*, 2006]. De plus, le conditionnement de la matière première, avant extraction, requiert une ou plusieurs opération(s) supplémentaire(s) telles que le séchage, le broyage, le tamisage, etc. [Chemat, 2014]. La purification des métabolites et la récupération du solvant sont aussi des opérations cruciales dans le développement d'un procédé viable [Chemat, 2014]. L'extraction des métabolites se fait généralement par extraction solide-liquide [Lavoie *et al.*, 2009]. C'est une opération unitaire classique de génie chimique utilisée en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [Sališová *et al.*, 1997; Cárcel *et al.*,

2012; Chemat *et al.*, 2011]. Son principe repose sur la mise en suspension d'une matière première solide, la biomasse lignocellulosique, dans un ou des solvant(s) extracteur(s), tels que l'émulsion de solvants verts. La composition et la nature (émulsion, fluide supercritique, etc.) de la phase liquide ont une influence significative sur les rendements d'extraction. Trois grandes étapes entrent en jeu lors de cette opération [Chemat, 2014]:

- i) l'imprégnation de la matière première par le(s) solvant(s);
- ii) la solubilisation des métabolites, pouvant être limitée par les interactions physico-chimiques mises en œuvre et la saturation du solvant;
- iii) l'extraction des métabolites solubilisés de la matière première solide.

Généralement, cette dernière étape est la plus longue [Chemat, 2014]. L'extraction solide/liquide peut durer jusqu'à 11h, par exemple, pour la méthode normalisée ASTM D1105-96 [ASTM, 2013; Wang et Weller, 2006]. Ainsi, le développement d'une méthode de prétraitement simple et efficace permettant l'extraction de métabolites primaires et secondaires issus de sources diverses offrirait une avancée technique et économique majeure dans le développement de bioraffineries de deuxième génération. Cela permettrait d'un côté d'éviter l'inhibition de la fermentation des sucres cellulosiques et hémicellulosiques, et d'un autre côté, de valoriser les métabolites à haute valeur ajoutée contribuant à la viabilité de la production de biocarburants de deuxième génération. Pour cela, l'élaboration de procédés plus rapides et/ou permettant de maximiser les rendements d'extractions des métabolites en lien avec leurs identifications et leurs purifications pour les valoriser en tant que biocommodités, est une avenue à prendre en considération.

La production de biocarburants de deuxième génération à partir de biomasse lignocellulosique se heurte donc encore à un problème de compétitivité et de rentabilité par rapport aux carburants d'origine fossile [Chemat, 2014]. Pour pallier à ce problème, le concept de bioraffinerie, alliant la production de biocarburants à celle de bioproduits à haute valeur ajoutée, est de plus en plus étudié. La viabilité de ces bioraffineries reposerait alors en partie sur l'exploitation des composés extractibles des plantes [Budzianowski et Postawa, 2016; Cherubini, 2010]. Les méthodes traditionnelles d'extraction des métabolites sont souvent longues et nécessitent une forte quantité de solvant et d'énergie [Chemat, 2014]. Dans le but d'atteindre la rentabilité des procédés actuels, de nouvelles méthodes d'extractions de métabolites ont été développées afin

de réduire les temps d'opération ainsi que les coûts de mise en œuvre des procédés. Les extractions assistées par ultrasons, notamment, sont de plus en plus utilisées en industrie [Chemat, 2014]. Elles permettent, entre autre, de diminuer considérablement les temps d'opérations et les coûts par rapport aux méthodes traditionnelles, par exemple l'extraction en Soxhlet [Chemat, 2014]. Lavoie et Stevanovic (2007) ont notamment réalisé des extractions assistées par ultrasons sur de la sciure de bois d'espèce *Betula*, dans du dichlorométhane. Ils ont ainsi pu obtenir des rendements plus élevés en extraits lipophiles, en des temps plus courts, comparé à une extraction en Soxhlet. Au sein de la CRIEC-B, l'utilisation d'ultrasons pour la production d'émulsion est l'une des techniques d'extraction étudiées. Les travaux de Nait Sidi Ahmed (2012) ont déjà démontré l'efficacité de l'émulsion eau/carbonate de diméthyle (DMC) couplée aux ultrasons sur du saule. À l'inverse des méthodes traditionnelles, qui reposent sur une succession d'extractions à l'aide de solvants apolaires puis polaires [Chemat, 2014], l'utilisation d'émulsion alliant l'eau et le DMC permet l'extraction simultanée des composés polaires et apolaires. La succession d'extractions avec des solvants plus ou moins polaire, nécessitant des temps d'opération longs, est alors remplacée par une seule étape, réduisant les coûts et les temps d'opération. Ces derniers pourraient être réduits et les rendements d'extraction améliorés grâce au phénomène de sonolyse combiné à une pré-purification liée à la dualité de polarité des solvants [Chemat, 2014; Nait Sidi Ahmed, 2012]. De plus, l'utilisation d'émulsions pour l'extraction de métabolites n'est pas commune et pourrait représenter une opportunité à exploiter dans le domaine des bioraffineries.

C'est pourquoi ce projet de recherche vise à optimiser l'extraction de composés présents dans la biomasse énergétique à l'aide d'ultrasons couplés à l'utilisation d'émulsions ultrasoniques utilisant des solvants verts qui sont l'eau et le carbonate de diméthyle, dans un ratio eau/DMC de 80/20 (v/v). L'opération d'extraction se fera à l'aide de deux réacteurs conçus lors de projet. Le premier système consiste en un réacteur fermé, appelé « batch », avec recirculation du liquide extracteur grâce à une pompe péristaltique, permettant le passage en permanence de l'émulsion, préformée et introduite dans le système, à travers le lit de biomasse. Le passage de l'émulsion à travers le lit de biomasse, pour un temps court et à température pièce, serait capable d'extraire la majorité des molécules extractibles de la biomasse. Ce système pourrait également servir de passerelle pour une extraction en réacteur de type ouvert qui pourrait intéresser l'industrie. Le deuxième système est un réacteur de type « batch-piston ». À l'inverse du précédant, la sonde à

ultrasons est en contact direct avec la biomasse et le mélange de liquides extracteurs. Les ultrasons créeront l'émulsion eau/DMC et devraient permettre de briser la paroi cellulaire de la biomasse pour aider à la libération du contenu intracellulaire dans le milieu. La sonolyse des cellules de la biomasse pourrait permettre l'utilisation de particules de plus grandes tailles, évitant alors les étapes préalables de broyage et de tamisage. La présence du piston permet l'ajout de pression lors de l'extraction, ce qui pourrait augmenter l'effet des ultrasons, notamment la sonolyse, permettant d'augmenter les rendements d'extraction tout en gardant des temps d'opération courts.

La biomasse utilisée dans le cadre de ce projet est le sorgho sucré [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. Il s'agit d'hybrides de sorgho sucré issus de cultures énergétiques, sélectionnés pour inhiber la croissance des grains et favoriser l'accumulation de sucre dans les tiges. La plante entière est donc utilisée et sa particularité réside dans le haut taux de sucres présent dans la plante, pouvant atteindre jusqu'à 60 % en masse sèche [Billa *et al.*, 1997]. Sa haute teneur en sucres libres permet la production d'éthanol de première génération tandis que sa structure lignocellulosique en fait un candidat à la production d'éthanol cellulosique. De plus, ses métabolites secondaires permettraient, entre autre, de lutter contre le cancer du colon et auraient un effet antioxydant [Massey *et al.*, 2014]. L'extraction de ces métabolites pourrait donc aider à rentabiliser la production de biocarburants, via un concept de bioraffinerie, tout en viabilisant l'exploitation industrielle de cette plante. Les rendements d'extractions en Soxhlet, obtenus par la méthode ASTM 1105-96 (« *Preparation of extractive-free wood* »), serviront de référence en comparaison avec les rendements obtenus lors des extractions en réacteurs « batch » avec recirculation et « batch-piston ». Ainsi, les paramètres optimaux d'extraction des deux réacteurs seront établis dans l'objectif d'atteindre les rendements obtenus par la méthode ASTM. L'influence de l'exposition de la biomasse aux ultrasons sur les rendements d'extraction est également analysée. Cependant, l'identification des composés extraits ne sera pas effectuée dans ce projet.

L'objectif principal de ce projet est ainsi de développer et d'optimiser les systèmes d'extraction de métabolites de la biomasse énergétique, dans le but de valoriser économiquement son exploitation industrielle. Cela passe par différents objectifs spécifiques :

- i. la détermination des rendements cibles par l'utilisation d'une méthode d'extraction normée, soit la norme ASTM D1105-96;

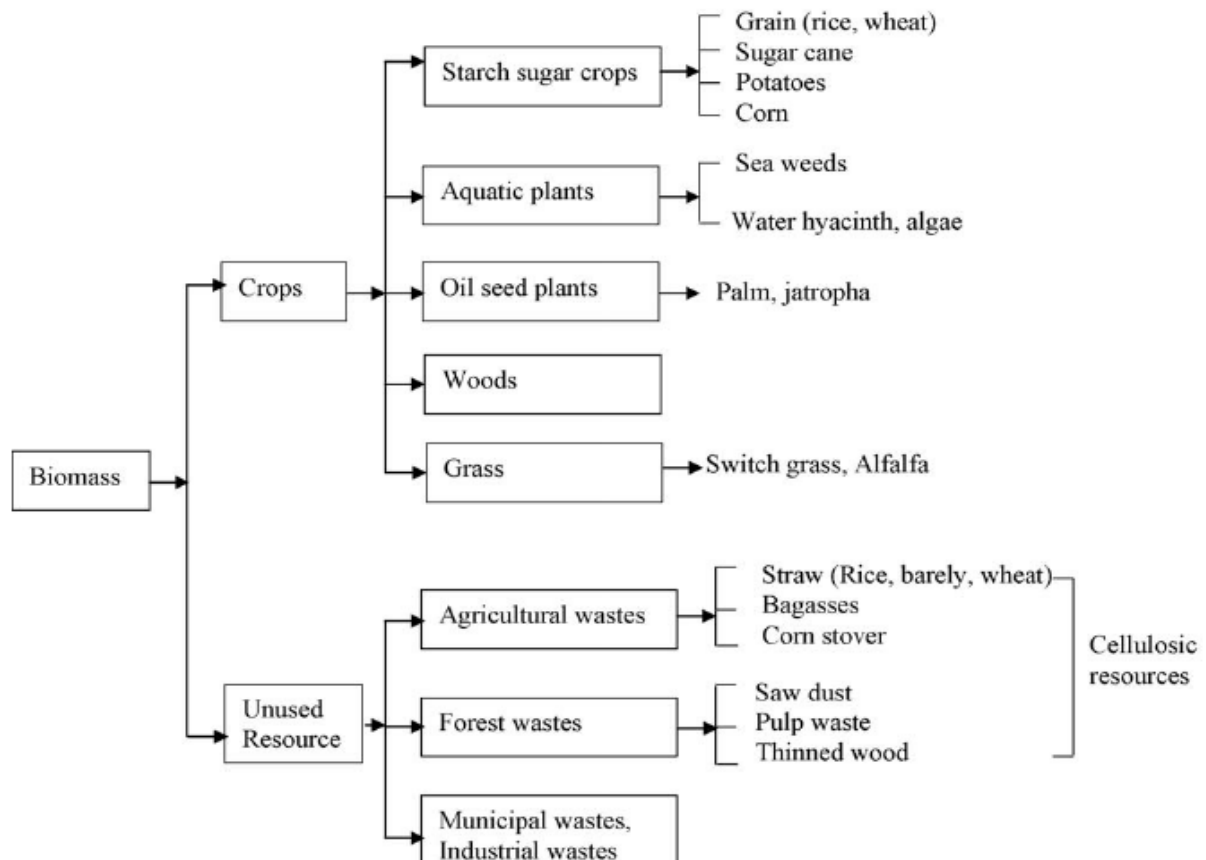
- ii. le développement des systèmes d'extraction des métabolites de la biomasse;
- iii. le test de différentes conditions opératoires pour optimiser les méthodes utilisées afin de maximiser les quantités d'extraits obtenus, tout en diminuant les coûts et les temps d'opération ainsi que les quantités de solvants utilisées, par rapport à la méthode conventionnelle d'extraction en Soxhlet.

Dans un premier temps, une revue de littérature sera effectuée, avec les définitions et les théories nécessaires à la bonne compréhension de ce projet. Ensuite, les méthodologies et le matériel utilisés seront décrits. La présentation et l'interprétation des résultats suivront. Enfin, une conclusion et les perspectives d'avenir viendront terminer ce mémoire. Les annexes, regroupant les protocoles détaillés, se trouvent à la suite de la conclusion.

**CHAPITRE 2 : ÉTAT DE L'ART, DÉFINITIONS ET
GÉNÉRALITÉS**

I. Les biocarburants

Les biocarburants sont définis comme étant des carburants dont l'énergie provient de la fixation biologique du carbone. Il s'agit donc d'hydrocarbures liquides ou gazeux fabriqués à partir de matière organique issue des plantes ou des animaux dans un court laps de temps (jusqu'à quelques années) et qui sont utilisés à des fins énergétiques [Biofuel et International Energy Agency, pages consultées en août 2015]. La différence entre les biocarburants et les carburants d'origine fossile vient de la période de temps pour les obtenir. Pour les carburants d'origine fossile, il faut ainsi des millions d'années avant de passer de la matière organique d'origine au carburant [Biofuel, page consultée en août 2015] alors que les biocarburants proviennent de biomasses ayant subi diverses transformations menant au bioéthanol ou au biodiesel par exemple. Cette biomasse peut provenir de ressources non-exploitées comme les résidus agricoles, forestiers ou urbains, ou être issue de diverses cultures, agricoles ou dédiées (culture énergétique) (Figure 2.1) [Naik *et al.*, 2010].



[Source : Naik *et al.*, 2010]

Figure 2.1 : Différentes origines de biomasses pour les bioraffineries

Actuellement, les biocarburants sont divisés en quatre générations :

- i. La première génération correspond aux biocarburants, tels que l'éthanol, produit à partir du sucre ou de l'amidon provenant de parties comestibles des plantes. Le biodiesel provient des huiles végétales et les biogaz sont issus de la digestion anaérobie de la biomasse. Les matières premières utilisées sont majoritairement la canne et la betterave à sucre, les céréales riches en amidon comme le maïs ou le blé, les cultures oléagineuses (canola, huile de palme, etc.), mais aussi les graisses animales [International Energy Agency, page consultée en août 2015]. Cependant, cela pose un problème éthique puisque les matières premières utilisées pour cette génération peuvent servir à l'alimentation humaine et animale. La justification de l'utilisation de ce type de biomasse pour la production de carburants est donc délicate alors que le problème de la disponibilité et du prix de la nourriture existe toujours dans certaines régions du monde.
- ii. Les biocarburants de génération 1.5 font le lien entre ceux de première et de deuxième génération. Tel qu'abordé précédemment, il n'existe pas de définition unique pour cette génération. Certains y voient l'exploitation de plantes non-alimentaires et l'utilisation de procédés de la première génération [Madson, 2012]. D'autres considèrent l'exploitation de la même plante pour produire du bioéthanol de première et de deuxième génération. Deux entreprises américaines produisent ainsi, à l'échelle industrielle, de l'éthanol à partir des fibres des grains de maïs [DuPont, page consultée en juillet 2016 et ICM Inc., 2013 et 2016].
- iii. Les biocarburants de deuxième génération sont obtenus à partir de matière première ne servant pas à l'alimentation humaine. Il s'agit essentiellement de la biomasse lignocellulosique, même si on retrouve également les huiles végétales usagées ou les résidus solides municipaux [Biofuel, page consultée en août 2015]. La biomasse lignocellulosique provient principalement de résidus forestiers et agricoles, ainsi que de cultures énergétiques. Les résidus forestiers et agricoles sont intéressants car il s'agit de matière première à faible coût, mais sont encore peu exploités. Environ 5 millions de tonnes de résidus forestiers sont produits chaque année au Québec, ce qui représente environ 1,6 milliards de litres d'éthanol potentiel s'ils étaient exploités [Choquette, 2007]. Quant aux cultures énergétiques, elles sont intéressantes mais encore peu

exploitées car elles utilisent les terres arables. De plus, cette filière n'est pas encore mature et le nombre d'acheteurs et le coût de revient sont faibles.

La production de bioéthanol de deuxième génération passe ainsi par l'exploitation des sucres cellulosiques et hémicellulosiques. La cellulose et les hémicelluloses n'entrant pas dans l'alimentation humaine, le problème éthique posé par la première génération de biocarburants est donc écarté si la biomasse ne provient pas de terres arables. En plus de l'éthanol cellulosique, on retrouve également les biocarburants issus de la conversion « Biomass-to-liquids » (BtL) et la synthèse de biogaz synthétiques (Bio-SynGaz). La conversion de la biomasse en biocarburants se fait donc par des voies biologiques, chimiques ou thermiques ou encore par une combinaison de ces différentes voies. Cependant, cette deuxième génération n'est pas encore complètement exploitable, de manière rentable, à l'échelle industrielle [International Energy Agency, page consultée en août 2015].

- iv. Enfin, la troisième génération utilise principalement le dioxyde de carbone comme matière première via la culture d'algues. Ces dernières présentent de nombreux avantages : la consommation de CO₂ pour produire de l'oxygène, la possibilité de détoxifier l'eau contaminée comme celle des stations d'épuration, une croissance rapide, l'absence d'utilisation de terres agricoles ou forestières, etc. Comparativement aux autres biomasses (en dehors des oléagineux), elles peuvent produire plus de lipides, servant à la synthèse de biodiesel, par surface d'exploitation. De plus, il est possible de les modifier génétiquement pour qu'elles produisent les molécules d'intérêt (butanol, essence, diesel, etc.) sans avoir à les transformer *a posteriori*. Cependant, cette génération de biocarburants n'en est encore qu'au stade de la R&D [Biofuel, page consultée en août 2015].

II. Le sorgho (*Sorghum bicolor*)

II. 1. Généralités

Le sorgho est une plante herbacée appartenant à la famille des *Poaceae* [Shoemaker et Bransby, 2010]. Il représente la cinquième culture céréalière mondiale et est principalement cultivé en Afrique, aux États-Unis, au Mexique et en Chine [Chantereau *et al.*, 2013]. De manière générale, quatre utilisations du sorgho sont identifiées. Le sorgho à grain est utilisé dans l'alimentation humaine et animale. Le sorgho fourrager et le sorgho herbeux servent de fourrage pour le bétail. Le sorgho sucré, quant à lui, sert à la production de sucre, de sirop et d'alcool [Seibel *et al.*, 2006; Taylor et Belton, 2002].

Il s'agit d'une plante annuelle à croissance rapide, 3 à 6 mois, qui présente une faible demande en eau, la rendant donc appropriée pour les zones sèches [Shoemaker et Bransby, 2010]. Le sorgho peut se développer sous des climats semi-arides, tropicaux, subtropicaux ou tempérés. Ainsi, en fonction de la disponibilité en eau, il est possible d'avoir un rendement variant entre 10 et 20 tMS.ha⁻¹. Il peut également croître sur différents types de sols (pauvres ou riches en minéraux) et présente un faible besoin en fertilisants pour croître [RMT Biomasse, 2009 ; Schaffer et Gourley, 1982; Shoemaker et Bransby, 2010]. Tout cela en fait un candidat intéressant pour être une culture énergétique.

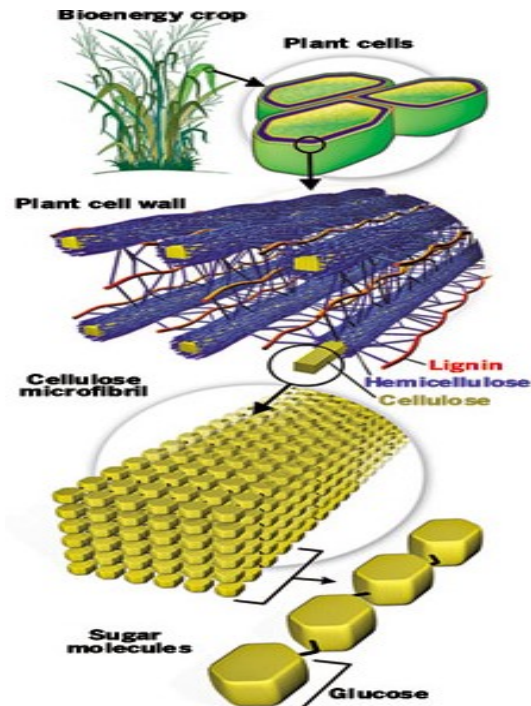
II. 2. Constitution

Comme toute biomasse lignocellulosique, le sorgho est constitué de cellulose, d'hémicelluloses et de lignine. La cellulose constitue le squelette de la plante. La lignine sert de matrice et rigidifie la structure de la plante. Enfin, les hémicelluloses stabilisent la structure lignocellulosique (Figure 2.2) [Shoemaker et Bransby, 2010; Sjöström, 1981]. En fonction de la nature du sorgho, la quantité de chaque élément structural varie (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 : Composition structurale du sorgho en fonction de sa nature

Type de sorgho (<i>Sorghum bicolor</i>)	Cellulose (%)	Hémicelluloses (%)	Lignine (%)
Fibre ^b	39 – 45	25 – 27	7 – 8
Fourrager ^b	23 – 33	19 – 26	4 – 13
Sucré ^a	11 – 14	9 – 11	4 – 5

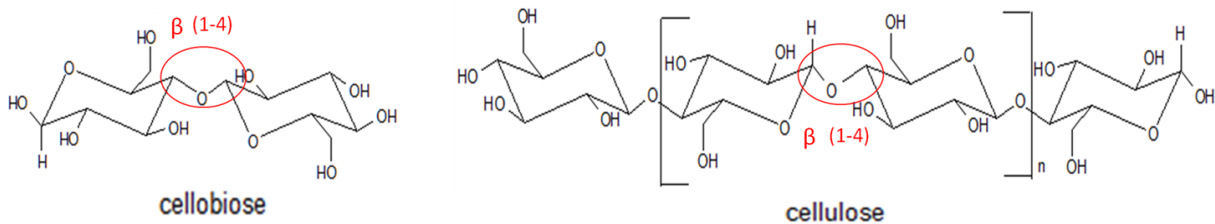
[Sources : ^aBilla *et al.*, 1997; ^bGodin *et al.*, 2010]



Source : [Eudes et Zanette, 2012]

Figure 2.2 : Agencement des composés structuraux principaux d'une plante lignocellulosique

La cellulose (Figure 2.3) peut être transformée en glucose par hydrolyse, pouvant par la suite être fermentés pour produire de l'éthanol de deuxième génération [Lavoie *et al.*, 2011; Saidi, 2011].



Source : [Université des Sciences et Technologies de Lille]

Figure 2.3 : Molécule de cellulose (n répétitions de la molécule de cellobiose)

Les hémicelluloses sont des polysaccharides dont la fonction principale est de renforcer la paroi cellulaire de la plante, via des interactions avec la cellulose et la lignine [Scheller et Ulvskov, 2010]. D'un point de vue industriel, les hémicelluloses sont fréquemment utilisées dans l'industrie agroalimentaire, comme additifs par exemple, en pharmacutique, notamment pour abaisser le taux de cholestérol, en plasturgie ou dans l'industrie des cosmétiques (Tableau 2.2) [Wertz, 2011]. Elles peuvent également être converties en éthanol par traitement chimique ou biochimique des pentoses et des hexoses issus de leur hydrolyse. L'utilisation de levures OGM est également possible [Wertz, 2011].

Tableau 2.2 : Applications possibles des hémicelluloses

Type	Application
Polysaccharides de réserve	Industrie alimentaire.
Hémicelluloses en général	Films et revêtements, Produits chimiques via hydrolyse et conversion des sucres, Biotechnologie et fermentation des sucres en C5.
Galactomannanes	Industries pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, du papier, des textiles, des explosifs, forage pétrolier et gazier, exploitation minière, hydro-ensemencement.
Glucomannanes	Fibres diététiques solubles dans l'eau.
Xyloglucanes	Industries pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, du papier, des textiles.

[Source : Wertz, 2011]

Quant aux molécules de lignine, celles-ci sont souvent considérées comme un déchet de l'industrie papetière et compose la liqueur noire produite par les procédés de délignification [Huet, 2015]. Cependant, de plus en plus de recherches s'intéressent à l'exploitation de ces molécules. En effet, le haut pouvoir calorifique des molécules issues des lignines les rend intéressantes pour la production de biocarburants. Enfin, de même que les tannins, les dérivés phénoliques pourraient être utilisés pour produire des résines thermodurcissables [Celzard *et al.*, 2012; Société chimique de France, page consultée en mars 2015].

En plus de ces éléments structuraux, il est aussi possible de trouver entre 5 % et 60 % d'autres substances organiques extractibles, appelées métabolites primaires ou secondaires, comme des tannins, des colorants (terpènes ou cires) ou encore des polysaccharides de réserve [Borredon *et al.*, page consultée en octobre 2014 ; Celzard *et al.*, 2012; Deglise et Donnot., 2004]. Pour le sorgho sucré, la teneur en sucres libres peut monter jusqu'à 60 % de la biomasse sèche [Billa *et al.*, 1997]. Des composés inorganiques, retrouvés dans les cendres, sont également présent dans les plantes en faible quantités (< 2 %) [Borredon *et al.*, page consultée en octobre 2014 ; Celzard *et al.*, 2012; Deglise et Donnot, 2004].

Les grains du sorgho contiennent environ 11,3 % de protéines. Les acides aminés constitutifs de ces protéines sont en majorité de l'acide glutamique (2,4 %), de la leucine (1,5 %), de l'alanine (1,03 %), de la proline (0,85 %) et de l'acide aspartique (0,74 %). C'est une céréale qui contient très peu de matière minérale (environ 1,5 %), constituée essentiellement de potassium et de phosphore, ainsi que des traces de magnésium, de calcium, de sodium et de fer [Seibel *et al.*, 2006].

Comme les autres céréales, le sorgho contient des acides phénoliques, concentrés au niveau des graines, dérivés d'acides benzoïque et cinnamique liés à un acide férulique. Ces acides

phénoliques ont des propriétés antioxydantes qui sont bénéfiques pour la santé. Le sorgho représente aussi une source d'anthocyanines et de tannins, qui possèdent également un pouvoir antioxydant [Awika et Rooney, 2004]. Cependant, toutes les espèces de sorgho ne contiennent pas de tannins et seulement 1 % du sorgho cultivé aux États-Unis en contient. Le sorgho peut également contenir d'autres composés phénoliques comme le naringénine [Awika et Rooney, 2004; Seibel *et al.*, 2006].

Des phytostérols sont aussi présents dans le sorgho, comme constituants de la membrane cellulaire. Ils ont la capacité d'abaisser le taux de cholestérol dans le sang ce qui en fait des composés d'intérêt pour la santé humaine d'un point de vue cardiovasculaire [Awika et Rooney, 2004]. Les phytostérols libres retrouvés dans le sorgho peuvent représenter de 46 à 51 mg pour 100 g de biomasse (0,046 à 0,051 %) et peuvent être des sitostérols, des campestérols ou des stigmastérols. Des acides gras estérifiés ont aussi été identifiés dans le sorgho [Singh *et al.*, 2003]. Enfin, les policosanols sont des alcools aliphatiques retrouvés dans les grains de sorgho. Ils ont les mêmes propriétés que les phytostérols et peuvent donc avoir un rôle important au niveau cardiaque, notamment grâce à leur capacité à diminuer le cholestérol [Awika et Rooney, 2004].

En ce qui concerne plus particulièrement le sorgho sucré, une étude menée par Billa *et coll.* en 1997 a permis d'identifier et de quantifier ses constituants principaux (Tableau 2.3).

Tableau 2.3 : Composition du sorgho sucré

Cellulose (%)	Hémicelluloses (%)	Lignines (%)	Saccharose (%)	Glucose (%)	Cendres (%)
11,2 – 13,6	9,2 – 11,2	4,4 – 5,2	50 - 60	2,9 – 3,5	0,27 – 0,33
Acide <i>p</i> -coumarique*			Acides féruliques*		
197,3 – 214,9			74 – 79,8		

* $\mu\text{mol/g}$ de résidu de paroi cellulaire

[Source : Billa *et al.*, 1997]

Des études récentes ont également montré la présence de composés pouvant lutter contre le cancer du colon, comme l'apigéninidine et la lutéolinidine, dans la tige du sorgho sucré [Massey *et al.*, 2014; Massey *et al.*, 2016].

Le sorgho pourrait donc présenter un intérêt industriel non négligeable dû aux extractibles d'intérêt pour les industries pharmaceutique, nutraceutique, cosmétique et alimentaire. De plus, la haute teneur en sucres libres du sorgho sucré en fait une matière première de choix pour l'industrie des biocarburants. Actuellement, environ 30 % de la production de sorgho-grains aux États-Unis sert à produire du bioéthanol. Quant au Brésil, la demande en sorgho sucré ne cesse

d'augmenter afin de compléter sa production d'éthanol biosourcé issu de la première génération de biocarburants [Chantereau *et al.*, 2013].

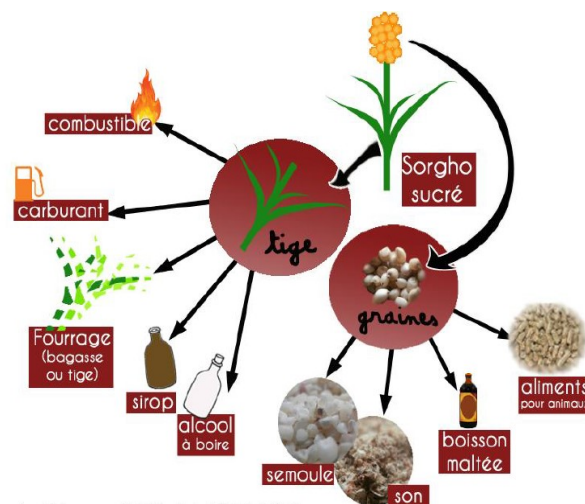
II. 3. Utilisations du sorgho sucré

En plus des caractéristiques citées précédemment, qui concernent l'ensemble des types de sorghos, le sorgho sucré (Figure 2.4) a la propriété d'accumuler des sucres, comme le glucose (~20%), le saccharose (~70%) et le fructose (~10%), au niveau de ses tiges [Chantereau *et al.*, 2013; Shoemaker et Bransby, 2010]. Le sorgho sucré est donc une source importante de sucres libres fermentescibles utilisables pour la production de bioéthanol. La partie lignocellulosique (tige, feuilles) de la plante peut également être valorisée à des fins énergétiques. L'hydrolyse de la cellulose donne du glucose qui est fermenté pour produire de l'éthanol cellulosique. Les résidus fibreux peuvent aussi être utilisés pour produire de l'électricité ou de la chaleur [Shoemaker et Bransby, 2010]. En Louisiane, Kim et Day (2011) ont évalué la production d'éthanol, à partir du jus, de la cellulose et de l'hémicellulose de sorgho sucré, à 5,8 kg par hectare, soit 97 kg par tonne de biomasse sèche. En comparaison, les valeurs théoriques pour la canne à sucre sont de 3,6 kg par hectare et 52 kg par tonne de biomasse (Kim et Day, 2011). La valorisation des différentes parties de la plante (Figure 2.5), via l'utilisation des sucres libres et des sucres cellulosiques, en fait donc un excellent candidat pour une culture énergétique [Saballos, 2008; Shoemaker et Bransby, 2010].



Source : [MAPAQ, page consultée en mars 2015]

Figure 2.4 : Sorgho sucré

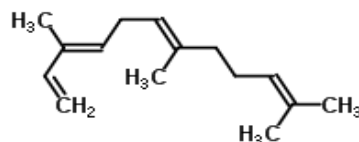


Source : [Levesque, 2014]

Figure 2.5 : Différentes voies de valorisation du sorgho sucré

Amyris, une compagnie américaine basée en Californie, travaille sur des solutions alternatives aux produits issus de l'industrie pétrolière, et notamment sur la transformation de sucres par les

microorganismes. Ainsi, en fermentant du jus de sorgho concentré par des levures, Amyris a réussi à produire un hydrocarbure appelé farnésène (Figure 2.6) et commercialisé sous le nom Biofene®. Cette molécule peut, entre autre, entrer dans la production de biodiesel. Amyris a notamment développé une usine pilote de production de farnésène à partir de sorgho sucré en utilisant des levures génétiquement modifiées. Ce qui fait du sorgho sucré une source à la fois de bioéthanol et de biodiesel [Amyris, 2013; EcoFin, 2012].



Source : [Howgego, 2011]

Figure 2.6 : Molécule de farnésène

III. Le diméthyle carbonate

Le carbonate de diméthyle (DMC) a pour formule chimique CH₃OC(O)OCH₃. Il s'agit d'un solvant organique considéré comme non-toxique [Ono, 1997] et dont les propriétés physico-chimiques sont regroupées dans le Tableau 2.4. Il est utilisé comme solvant dans les peintures et les encres mais aussi comme additif pour les carburants [Coker, 2012].

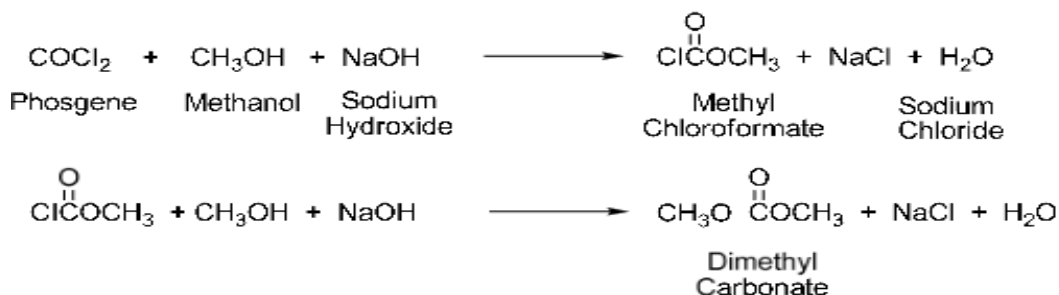
Tableau 2.4 : Propriétés physico-chimiques du carbonate de diméthyle

Température de fusion (°C)	4,6
Température d'ébullition (°C)	90,3
Point éclair (°C)	21,7
Viscosité (cPs)	0,625
Densité à 20°C (g.cm⁻³)	1,07
Moment dipolaire (D)	0,91
Solubilité dans l'eau (g/100 g)	13,9
Formation d'azéotrope avec	Eau, alcools, hydrocarbures

[Tundo et Selva, 2002]

La voie « classique » de production du DMC passe par la réaction du phosgène (COCl₂) avec du méthanol et de l'hydroxyde de sodium (Figure 2.7). Cependant, le phosgène est particulièrement toxique, c'est pourquoi, une autre voie de synthèse du DMC, plus respectueuse de l'environnement, a été développée. Celle-ci implique la réaction de méthanol avec du dioxyde de carbone (Figure 2.8) [Coker, 2012]. Le méthanol utilisé peut également être produit à partir de ressources renouvelables, biomasse vierge ou issus de déchets, ou à partir de dioxyde de carbone issu de gaz de combustion, il est alors appelé bio-méthanol [IEA-ETSAP & Irena, 2013]. L'utilisation de méthanol bio-sourcé, ou issu de ressources renouvelables, pour produire

du DMC via une réaction avec le dioxyde de carbone, alliée à la non-toxicité du DMC, fait de ce dernier un solvant dit « vert ».



Source : [Coker, 2012]

Figure 2.7 : Formation de carbonate de diméthyle à partir de phosgène



Source : [Bhanage *et al.*, 2003]

Figure 2.8 : Formation de carbonate de diméthyle à partir de CO₂ et de méthanol

L'utilisation industrielle principale du DMC (51 %) est pour la production de polycarbonates aromatiques. Il peut également servir à la production de carbamates et d'isocyanates. De plus, le DMC a la caractéristique d'être un bon agent de méthylation [Ono, 1997], surtout lorsqu'il s'agit d'obtenir des amines primaires mono-méthylées [Sharma *et al.*, 2010]. Dans 24 % des cas, le DMC est utilisé comme solvant, c'est le cas notamment pour les batteries au lithium dans lesquelles il sert d'électrolyte. Enfin, le secteur des carburants s'intéresse au DMC en tant qu'additif car celui-ci présente un faible potentiel photochimique de création d'ozone, ce qui en fait un composé à faibles risques pour l'environnement et la santé humaine [Coker, 2012; Delledonne *et al.*, 2001].

En 2012, un brevet a été déposé portant sur l'extraction de métabolites odorants avec du DMC, à des fins d'utilisations dans l'industrie cosmétique et alimentaire notamment [Lavoine-Hanneguelle, 2012]. Au sein de la CRIEC-B, Les travaux de Nait Sidi Ahmed (2012) ont démontré l'efficacité du DMC, en mélange avec de l'eau (eau/DMC 80/20 v/v), à solubiliser des extractibles du saule en remplaçant l'éthanol et le toluène utilisés dans la méthode ASTM D1105-96. En utilisant un mélange eau/DMC, le DMC va ainsi permettre de capter les métabolites moyennement polaires et l'eau permet d'extraire les métabolites polaires. Nait Sidi Ahmed (2012) a également déterminé le ratio optimum pour la stabilité de l'émulsion à 80/20 v/v.

IV. La pertinence d'aller chercher les extractibles avant d'utiliser la plante pour produire des biocarburants

Les extractibles, qui représentent les métabolites primaires et secondaires de la plante, peuvent être captés par différents solvants. Ils ne font pas partie des éléments structuraux de la plante. Les métabolites primaires sont nécessaires au métabolisme et au bon développement de la plante. Ils regroupent les protéines, les lipides, les glucides, les acides aminés et les acides nucléiques. Les métabolites secondaires ont, par exemple, un rôle dans les mécanismes d'attraction des pollinisateurs, de défense face aux prédateurs ou encore de communication entre les individus. Il s'agit de composés phénoliques, de composés alcaloïdes, de terpènes, etc. La nature et la quantité de ces molécules varie grandement d'une espèce de biomasse lignocellulosique à une autre [Celzard *et al.*, 2012, Mohan *et al.*, 2006]. De par leurs multiples propriétés, les extractibles peuvent trouver un marché dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques, chimiques ou agroalimentaires [Royer, 2012].

De plus, certaines de ces molécules peuvent venir interférer de manière négative avec les procédés de conversion de la biomasse en biocarburants. C'est le cas notamment des molécules phénoliques, ainsi que des acides faibles. Ceux-ci vont notamment inhiber la fermentation des sucres par les levures [Brandon Sutton, 2011]. Il est donc nécessaire de séparer les molécules extractibles du reste de la biomasse avant l'étape de fermentation. Il est alors possible de les isoler et de les vendre aux industries intéressées, ce qui contribuerait au financement des activités de production de biocarburants, via le concept de bioraffinerie, tout en permettant aux agriculteurs de vendre plus cher leur biomasse.

V. Méthodes d'extraction des métabolites secondaires

Les méthodes de prétraitements de la biomasse dans les bioraffineries peuvent être physiques, chimiques, physicochimiques ou encore biologiques. Pour des raisons économiques, il est préférable d'employer des méthodes ne requérant pas l'utilisation de petites tailles de particules, nécessitant un broyage et un tamisage, ou de nombreux produits chimiques, car les déchets produits doivent être traités. Les conditions d'opérations doivent également être contrôlées pour éviter l'utilisation de hautes pressions ou températures [Behera *et al.*, 2014].

Concernant l'extraction des extractibles, les méthodes conventionnelles telles que la macération, la percolation ou l'extraction en Soxhlet, présentent plusieurs inconvénients. Parmi ceux-ci, il

est possible de citer les temps d'extraction très longs, de faibles rendements et l'utilisation d'une grande quantité de solvants (aqueux et organiques). Ces méthodes sont d'autant plus coûteuses en énergie et entraînent inévitablement un impact significatif sur l'environnement [Chemat, 2014]. Pour résoudre ces problématiques, plusieurs approches complémentaires sont étudiées. Parmi celles-ci, les extractions par fluides supercritiques, par micro-ondes ou encore par ultrasons sont les plus étudiées [Wang et Weller, 2006 ; Chemat, 2014].

V. 1. Techniques conventionnelles : extractions par solvants

Les méthodes conventionnelles d'extraction des métabolites se basent le plus souvent sur l'affinité des molécules pour différents solvants et sur l'utilisation de chauffage et/ou d'agitation [Azmir *et al.*, 2013].

L'extraction en Soxhlet date de 1879 [Soxhlet, 1879] et représente la méthode de référence pour les extractions de métabolites des plantes (ASTM D1105-96 « Extractive-free wood » notamment). L'efficacité des autres méthodes d'extraction est ainsi comparée aux résultats obtenus en Soxhlet. De la biomasse est mise en contact avec du solvant frais à chaque cycle permettant l'extraction complète des métabolites sans saturation du solvant extracteur. La méthode de l'extraction en Soxhlet est expliquée plus en détail au point I.3 du chapitre 3.

La macération est une méthode simple pour l'extraction de métabolites. La biomasse est mise en contact avec une grande quantité de solvant. Une agitation peut être appliquée pour faciliter l'extraction et assurer une bonne distribution de la biomasse dans le solvant. De plus, pour éviter la saturation du solvant, celui-ci peut être changé régulièrement après filtration, ou une quantité de solvant frais peut être ajouté au mélange en cours d'extraction [Azmir *et al.*, 2013].

L'hydro-distillation est une autre méthode conventionnelle d'extraction. Il s'agit de la troisième étape d'extraction de la méthode ASTM D1105-96. Comme son nom l'indique, l'extraction se fait sans solvant organique mais avec de l'eau liquide, avec de la vapeur d'eau ou avec un mélange d'eau liquide et de vapeur d'eau [Vankar, 2004]. En fonction de la méthode utilisée, la biomasse est placée dans une quantité d'eau suffisante qui est ensuite portée à ébullition, de la vapeur d'eau pouvant être ajoutée. À l'aide d'un séparateur, l'eau et les extraits sont ensuite séparés [Silva *et al.*, 2005]. L'inconvénient de cette méthode étant la perte des composés volatiles ou thermolabiles.

L'inconvénient majeur de ces méthodes est qu'elles nécessitent généralement de broyer finement la biomasse à extraire pour augmenter la surface de contact et faciliter l'action des

solvants. De plus, ces méthodes nécessitent des temps d'extraction souvent longs et de grandes quantités de solvants qu'il faut ensuite traiter, ceux-ci pouvant être toxiques pour l'homme et l'environnement [Gil-Chavez *et al.*, 2013]. Enfin, le choix des solvants utilisés est fonction des extraits désirés et de leur polarité [Azmir *et al.*, 2013].

V. 2. Techniques non-conventionnelles

Pour pallier aux inconvénients des méthodes conventionnelles, comme les temps d'extraction longs et les quantités importantes de solvants utilisées, de nouvelles méthodes ont été développées. Parmi celles-ci, quelques méthodes semblent plus prometteuses comme les extractions assistées par enzymes, par micro-ondes, par fluides supercritiques, par liquide pressurisés, par champs électriques pulsés ou encore par ultrasons. Lorsque ces méthodes utilisent peu ou pas d'agents chimiques toxiques, des ressources renouvelables ou encore lorsqu'elles présentent une faible demande énergétique, elles peuvent être considérées comme des technologies « verte » [Azmir *et al.*, 2013]

V. 2. a Extractions assistée par enzymes (EAE)

Les extractibles pouvant se retrouver dans la cellule ou dans la matrice lignine-hémicellulose-cellulose de la plante, les solvants ne sont pas toujours capables d'aller chercher l'ensemble de ces métabolites. La digestion enzymatique de la lignocellulose permet la libération du contenu intracellulaire dans le milieu et facilite l'action ultérieure des solvants [Azmir *et al.*, 2013].

Deux méthodes principales sont utilisées, l'extraction aqueuse assistée par enzymes et la pression à froid assistée par enzymes [Latif et Anwar, 2009]. L'efficacité de ces méthodes dépend de l'enzyme utilisée, de sa concentration, de la taille des particules à traiter ainsi que du temps d'exposition entre l'enzyme et la biomasse [Niranjan et Hanmoungjai, 2004]. Ainsi, Wang *et coll.* (2012) ont démontré que la combinaison d'un prétraitement biologique et d'une extraction à l'eau chaude permet d'augmenter les rendements jusqu'à 2,7 fois par rapport à l'extraction à l'eau chaude seule. Dans un premier temps, les enzymes produites par les champignons vont hydrolyser la matrice lignocellulosique. Les composés solubles sont ensuite extraits lors de l'extraction à l'eau chaude.

Les méthodes EAE sont dites « vertes ». Elles permettent de meilleurs rendements que les méthodes n'utilisant que des produits chimiques, avec des réductions de temps, de quantités de solvants et/ou d'énergie [Azmir *et al.*, 2013]. L'utilisation d'enzyme permet également

d'hydrolyser la cellulose sans former d'inhibiteurs de fermentation [Sindhu *et al.*, 2016]. Cependant, le prix des enzymes est élevé, variant en fonction de la souche de microorganisme utilisée et du nombre d'unité enzymatique. Ainsi, chez Sigma Aldrich, une bouteille de cellulases en poudre d'*Aspergillus niger* de 5 000 unités enzymatiques coûte 50 \$ canadiens. Pour la même quantité, le prix est de 97,30 \$ canadiens pour des cellulases issues de *Trichoderma reesei* ATCC 26921.

V. 2. b Extraction par champs électrique pulsé (CEP)

L'extraction par champ électrique pulsé repose sur la destruction de la paroi cellulaire pour améliorer l'extraction par solvant suivant l'exposition au champ électrique. La biomasse est exposée à un champ électrique qui vient briser les interactions entre les molécules ce qui augmente la perméabilité de la membrane cellulaire [Bryant et Wolfe, 1987]. L'efficacité de ce traitement dépend donc, entre autre, de la force du champ électrique appliqué, de la température et de la biomasse à extraire [El-Belghiti, 2005]. La CEP permet la lyse de la paroi cellulaire améliorant ainsi l'extraction tout en réduisant les temps d'opération [Toepfl *et al.*, 2006]. De plus, cette méthode permet de maintenir une température relativement faible, ce qui limite la dégradation de composé thermolabiles [Ade-Omowaye *et al.*, 2001].

V. 2. c Extractions par fluides supercritiques (SFE)

L'extraction par fluides supercritiques est notamment utilisée pour l'obtention de café sans caféine [Zosel, 1964 ; Ndiomu et Simpson, 1988]. Un fluide supercritique est obtenu lorsqu'un produit est soumis à des conditions de température et de pression au-delà de son point critique [Inczedy *et al.*, 1998]. Au-delà de ce point, l'état gazeux n'est plus distingué de l'état liquide, ce qui fait que le fluide supercritique possède les propriétés d'un gaz (diffusion, viscosité et surface de tension) et celle d'un liquide (densité et pouvoir de solvation). Un fluide supercritique permet l'extraction de métabolites dans des temps plus courts et avec des rendements plus élevés que les méthodes conventionnelles [Sihvonen *et al.*, 1999].

L'utilisation de dioxyde de carbone pour la SFE permet de travailler à des températures proches de la température ambiante, ce qui limite la dégradation des extraits mais n'est pas idéale pour tout type de composés comme ceux ayant des fins pharmaceutiques [Azmir *et al.*, 2013]. Cette méthode peut être hautement sélective et peut permettre l'obtention de composés de haute pureté. Ceux-ci peuvent, par la suite, être vendus à l'industrie pharmaceutique, cosmétique ou agroalimentaire [Lang et Wai, 2001]. Cependant, les coûts d'investissements sont relativement

élevés par rapport à d'autres méthodes ce qui peut être un frein à son utilisation en bioraffinerie [Ajila *et al.*, 2010; Segneau *et al.*, 2013]. De plus, l'utilisation de fluides supercritiques nécessite des conditions de réalisation plus dangereuse, en raison des pressions d'opération élevées [Ajila *et al.*, 2010; Reverchon et De Marco, 2006; Wang et Weller, 2006].

V. 2. d Extraction par fluides pressurisés (PFE) et explosion à la vapeur

L'extraction par fluides pressurisés est une méthode récente, 1996, aussi connue sous le nom d'extraction accélérée par fluide, extraction augmentée par solvant ou extraction par solvant à haute pression [Nieto *et al.*, 2010]. L'extraction à haute pression permet de maintenir le solvant sous forme liquide, au-delà de son point d'ébullition, et facilite l'extraction des molécules [Azmir *et al.*, 2013]. Cette méthode permet de réduire les temps d'extraction et la quantité de solvant utilisée [Ajila *et al.*, 2010]. Concernant les extractions de composés polaires, la PFE est une alternative à la SFE [Kaufmann et Christen, 2002]. Les températures élevées d'opération augmente la solubilité des molécules et donc les rendements, mais peuvent dégrader les molécules thermolabiles [Ajila *et al.*, 2010 ; Azmir *et al.*, 2013].

L'explosion à la vapeur de biomasse lignocellulosique est un procédé physico-chimique de plus en plus utilisé. La biomasse est exposée à de la vapeur à haute température et à haute pression pendant quelques minutes, avant de passer à la pression atmosphérique. Cela permet de briser la structure de la biomasse et facilite l'hydrolyse enzymatique de la cellulose. La biomasse peut, au préalable, être imbibée d'acide pour augmenter les rendements en sucres [Behera *et al.*, 2014; Linde *et al.*, 2007]. Les paramètres influençant l'efficacité de la méthode sont le temps de résidence, la température, la taille de la biomasse et son humidité. L'ajout d'acide, comme l'acide sulfurique ou de dioxyde de carbone, peut diminuer les temps et les températures de traitement, tout en augmentant le taux d'hydrolyse et en diminuant la formation d'inhibiteurs. Cependant, en fonction de la biomasse utilisée, l'efficacité de la méthode diffère [Behera *et al.*, 2014]

V. 2. e Extraction assistée par Micro-ondes (MAE)

Cette méthode relativement récente combine l'utilisation de micro-ondes (300 MHz à 800 GHz) à la méthode conventionnelle d'extraction par solvant [Azmir *et al.*, 2013]. L'énergie délivrée dans le milieu est absorbée et est convertie en énergie thermique [Gil-Chavez *et al.*, 2013]. Les

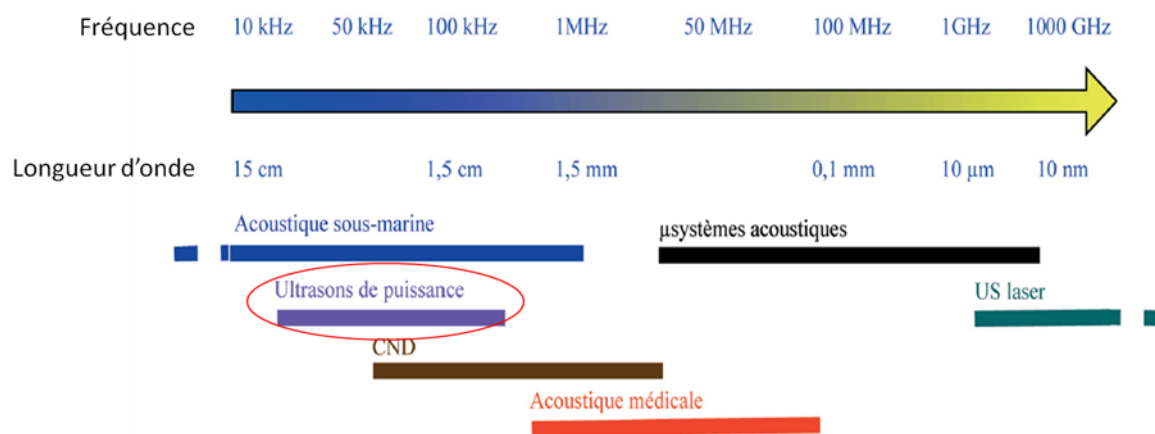
micro-ondes augmentent la température du solvant et de la plante, augmentant les cinétiques d'extraction. Dans un premier temps, grâce à l'augmentation de température et de pression au sein de l'échantillon, les extractibles se séparent de la matrice lignocellulosique, le solvant se diffusant dans la matrice peut alors les solubiliser [Alupului, 2012].

Cette méthode offre des avantages, tels que l'augmentation de la pureté des extraits, la possibilité de réduire les quantités de solvants toxiques utilisés, celle de réduire les coûts d'opération, l'énergie nécessaire et la consommation en solvants, ce qui en fait une technologie plus respectueuse de l'environnement. De plus, le temps d'opération peut être significativement réduit. De récentes applications d'extractions assistées par micro-ondes, et utilisant un procédé sous pression ou sans solvant, ont également été développées [Segneau *et al.*, 2013]. Cependant, bien que leurs utilisations permettent de réduire les temps de traitement et la consommation en solvants, tout en présentant de hauts rendements d'extraction, ils augmentent également de manière significative la température de la cellule. Cette élévation de température peut détruire certaines molécules thermolabiles d'intérêts pour l'industrie [Mandal *et al.*, 2007 ; Zhang *et al.*, 2011]. De plus, les coûts d'investissement sont élevés, ce qui peut être un frein à l'utilisation de ce type d'extraction [Ajila *et al.*, 2010].

V. 2. f L'extraction assistée par ultrasons (UAE) et émulsions ultrasoniques

Les ultrasons sont des ondes vibratoires acoustiques ayant des fréquences allant de 16 kHz à 10^{10} kHz. Ils sont donc à l'origine de sons inaudibles pour l'humain, car leurs fréquences sont en majorité supérieures au seuil d'audibilité de notre oreille (0.02 kHz à 20 kHz) [Gazanhe et Jessel, 1970; Pétrier *et al.*, 2008; Société Française d'Acoustique, 2010]. En fonction de leur fréquence, le domaine d'application des ultrasons diffère (Figure 2.9).

L'appareil à ultrasons utilisé pour l'extraction génère des ultrasons de puissance (20 kHz). Dans cette catégorie, deux niveaux sont distingués : ceux de basses fréquences, allant de 16 à 100 kHz, et ceux de hautes fréquences, allant de 100 kHz à 1000 kHz [Chemat, 2014]. En milieu solide, les ultrasons de puissance vont produire des échauffements et une vibration du milieu, alors qu'en milieu liquide, ils produiront essentiellement un phénomène de cavitation [Société Française d'Acoustique, 2010; Chemat, 2014].



Source : [Société Française d'Acoustique, 2010]

Figure 2.9 : Exemple de domaine d'application des ultrasons en fonction de la fréquence et de la longueur d'onde

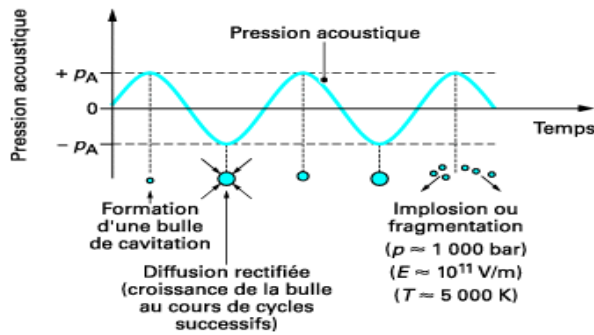
L'utilisation d'ultrasons comme méthode d'extraction présente plusieurs avantages : diminuer les temps d'extraction et les quantités de solvants utilisés, tout en augmentant les rendements d'extraction et en gardant une température basse dans le milieu [Chemat, 2014]. Les molécules thermolabiles sont ainsi préservées [Ajila *et al.*, 2010]. Elle peut être utilisée avec des échantillons solides ou liquides et pour extraire des composés organiques ou inorganiques. Dans le cas d'échantillons solides, ce type d'extraction peut notamment être utilisé dans un procédé en continu en récupérant le solvant au fur et à mesure de l'extraction [Rezic *et al.*, 2008]. Il s'agit d'une méthode modifiée de macération où les ultrasons facilitent l'extraction des composés à solubiliser via la lyse de la paroi cellulaire. L'efficacité de ce procédé dépend de la fréquence et de l'amplitude des ultrasons. Plusieurs auteurs ont ainsi rapporté l'efficacité de cette méthode sur l'extraction de métabolites de plantes en augmentant notamment les rendements obtenus en fonction des solvants utilisés [Azmir *et al.*, 2013; Nait Sidi Ahmed, 2012]. En combinant les ultrasons à de l'agitation, en modifiant les temps d'extraction et les solvants utilisés, Rostagno *et coll.* (2003) ont ainsi pu extraire différents dérivés d'isoflavone de fèves de soya.

La succession de compression et de décompression créée par les ultrasons de puissance à basses fréquences provoque des turbulences dans le milieu de propagation [Combette *et al.*, 2001]. Des bulles, dites de cavitation, se créent pendant les phases de décompression. Celles-ci implosent lors des phases de compression, provoquant la cavitation (Figure 2.10) [Laborde *et al.*, 1998]. En présence de matériel biologique, les bulles de cavitation qui implosent à proximité de cellules, brisent les parois cellulaires. Cette sonolyse facilite l'extraction de molécules

d'intérêts, puisqu'elle permet de libérer le contenu intracellulaire qui se retrouve ainsi dans la solution et qui peut être capté par un solvant avec lequel les métabolites possèdent des affinités (Figure 2.11) [Vilkhu *et al.*, 2008; Veillet, 2010; Nait Sidi Ahmed, 2012; Chemat, 2014]. Lorsque le phénomène de cavitation se produit à l'interface des deux liquides non miscibles, l'implosion des bulles provoque leur mélange homogène, formant ainsi une émulsion. L'émulsion est un mélange multiphasique (phase dispersée et phase continue) de liquides non miscibles entre eux, se présentant comme une dispersion sous la forme de gouttelettes. Une émulsion dont la phase continue est aqueuse (polaire) est appelée « émulsion huile dans eau » (H/E). À l'inverse, si la phase continue est « grasse » (non polaire), il s'agit d'« une émulsion eau dans huile » (E/H). Il existe également des émulsions dites « multiples », composées de trois phases ou plus (E/H/E ou H/E/H) [Brochette, 1999]. De manière générale, la taille des gouttelettes de la phase dispersée varie entre 0,1 et 100 μm . Les émulsions ont le plus souvent un aspect opaque et/ou blanchâtre. Elles peuvent être liquide, mais aussi crémeuse, voire même gélifiée. Grâce à ces différentes textures, les émulsions peuvent aussi bien être utilisées en agroalimentaire, dans le domaine de l'hygiène ou de la beauté [Brochette, 1999]. L'un des exemples le plus connu de l'émulsion est probablement celui de la mayonnaise, où l'huile est dispersée en gouttelettes dans l'eau contenue dans l'œuf et le vinaigre.

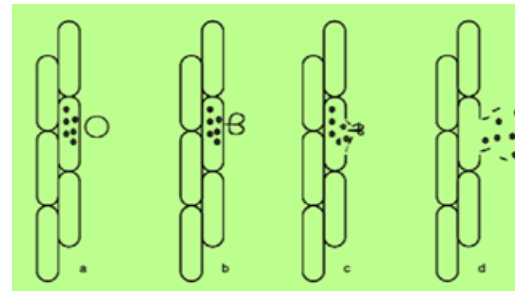
Pour former une émulsion, il faut donc un liquide polaire, un liquide non-polaire et un moyen de dispersion de ces deux liquides (mélangeurs, ultrasons, homogénéisateur à haute pression). Un agent émulsifiant (ou émulsionnant) peut également être ajouté pour stabiliser l'émulsion et permettre son maintien dans le temps [Brochette, 1999]. Ces agents émulsionnants sont des molécules amphiphiles qui se placent à l'interface entre la phase aqueuse et la phase grasse. Il s'agit d'esters partiels d'acides gras, de polyols ou d'acides organiques ou encore de lécithines (phospholipides) [Université de Technologies de Compiègne, PDF consulté en novembre 2014 ; Lattes, page consultée en novembre 2014].

L'avantage des émulsions créées par ultrasons réside dans la rapidité de réalisation et dans la taille nanométriques des bulles générées, rendant la mixture très stable par rapport aux émulsions créées par agitation mécanique [Canselier *et al.*, 2004 ; Hielscher, 2005].



Source : [Canselier *et al.*, 2004]

Figure 2.10 : Évolution d'une bulle de cavitation



Source : [IDOC, page consultée en mars 2015]

Figure 2.11 : Impact de l'implosion d'une bulle de cavitation à la surface d'une cellule végétale

V. 3. Résumé des avantages et inconvénients des différentes méthodes d'extraction des métabolites de la biomasse

Les méthodes mentionnées aux points V.1 et V.2 présentent toutes des avantages et des inconvénients (Tableau 2.5 et Tabeau 2.6). Le choix de la méthode utilisée doit les prendre en considération, en fonction de la biomasse à extraire, des métabolites désirés et des moyens mis à disposition.

Tableau 2.5 : Avantages et inconvénients des méthodes conventionnelles d'extraction des métabolites de la biomasse

	Avantage(s)	Inconvénient(s)
Soxhlet	Utilisation de faibles quantités de solvants, sans phénomène de saturation.	Souvent plusieurs heures d'extraction Nécessite des particules de petite taille. Toxicité des solvants en fonction des molécules à extraire. Perte des composés thermolabiles/volatiles.
Macération	Le solvant n'est pas nécessairement chauffé → conservation les molécules thermosensibles.	Souvent plusieurs heures d'extraction Nécessite des particules de petite taille. Toxicité des solvants en fonction des molécules à extraire. Phénomène de saturation : grandes quantités de solvants nécessaires.
Hydro-distillation	Solvant : eau (liquide ou vapeur)	Souvent plusieurs heures d'extraction Nécessite des particules de petite taille. Perte des composés thermolabiles/volatiles. Phénomène de saturation : grandes quantités d'eau nécessaires.

Tableau 2.6 : Avantages et inconvénients des méthodes non-conventionnelles d'extraction des métabolites de la biomasse

	Avantage(s)	Inconvénient(s)
EAE	Augmente l'accessibilité des extractibles. Hydrolyse de la cellulose → obtention de sucres cellulosiques fermentables.	Prix des enzymes. Deux étapes nécessaires → hydrolyse de la cellulose puis extraction avec des solvants.
CEP	Lyse de la paroi cellulaire → amélioration de l'extraction et réduction des temps d'opération. Température faible : molécules thermolabiles conservées.	Deux étapes nécessaires → exposition de la biomasse aux champs électriques pulsés puis extraction avec des solvants.
SFE	Méthode sélective. Obtention de composés de grande pureté.	Coûts d'investissements. Pressions d'opération élevées. Température généralement élevée : dégradation des composés thermolabiles.
PFE	Réduction des temps d'opération. Réduction de la quantité de solvant utilisée.	Pressions d'opération élevées. Température élevée : dégradation des composés thermolabiles.
Explosion à la vapeur	Faible demande énergétique. Procédé rentable pour le bois dur. Permet la diminution de la taille des particules.	Peu efficace sur du bois souple ou de la biomasse herbeuse. Formation d'inhibiteurs de fermentation. Destruction incomplète de la matrice lignine-sucres.
MAE	Lyse cellulaire : augmentation possible des rendements d'extraction. Diminution du temps d'opération. Diminution possible de la quantité de solvants.	Augmentation importante de la température : dégradation des composés thermolabiles.
UAE	Lyse cellulaire : augmentation possible des rendements d'extraction. Diminution du temps d'opération. Diminution possible de la quantité de solvants. Température suffisamment basse pour préserver les molécules thermolabiles.	Problème de répétabilité et de reproductibilité lors de l'utilisation de sonde à ultrasons. Problème non observé avec un bain à ultrasons.* Moins efficace sur des cellules rondes.

* Khoddami *et al.*, 2013

En résumé, pour ce projet, une émulsion eau/DMC (80/20 v/v) est créée par ultrasons pour avoir une émulsion stable. Celle-ci va permettre d'extraire à la fois les métabolites polaires et faiblement à moyennement polaires du sorgho sucré. L'effet des ultrasons, en contact direct avec la biomasse, sera également étudié pour vérifier leur potentiel à améliorer l'extraction des métabolites. Dans un contexte de bioraffinerie, ces métabolites pourront être valorisés, pour rentabiliser la production de biocarburants de deuxième génération.

**CHAPITRE 3 : DÉVELOPPEMENT, RÉSULTATS ET
DISCUSSION**

I. Matériel et méthode

Pour ce projet, la masse sèche de la verrerie utilisée est toujours déterminée avant d'effectuer les extractions. À cette fin, celle-ci était mise au four à 105 °C pendant au moins 24 h puis placée dans un dessiccateur pendant au moins 15 minutes, pour qu'elle soit à température pièce avant d'être pesée pour en déterminer la masse sèche initiale (Annexe A). Les rendements d'extractions étaient calculés par rapport à la masse sèche initiale de la biomasse, qui était déterminée en suivant le protocole en Annexe B. Le pourcentage d'extraction par perte de masse du sorgho était déterminé par le protocole en Annexe C. Après pesée des extraits secs hydrophobes et hydrophiles, les rendements respectifs étaient calculés grâce au protocole en Annexe D.

I. 1. Sorgho sucré

Le sorgho sucré [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] a été cultivé au CÉROM. Il s'agissait d'hybrides issus de 9 cultivars différents, fauchés le 6 octobre 2014, pressés le 18 octobre 2014 puis séchés. Ces hybrides étaient sélectionnés pour minimiser la production de graines et maximiser la production de biomasse riche en sucres solubles totaux.

Le sorgho a été reçu dans des sacs en toile contenant de 2 à 5 kg de plante entière broyée grossièrement et est appelée ici sorgho « brut » (Figure 3.1). Ce sorgho brut était très hétérogène au niveau de la taille des particules, avec des tailles de particules allant de très fines (< 250 µm) à plus de 20 cm de long (< 1 cm de large). Pour un aspect technique, les particules les plus longues ont été coupées manuellement pour avoir une taille ne dépassant pas 5 cm de long.

Des tests ont aussi été effectués sur des particules de 250-425 µm (Figure 3.2) qui ont nécessité un broyage supplémentaire, ainsi qu'un tamisage pour isoler les particules de la taille souhaitée. Cela a



Figure 3.1 : Sorgho brut



Figure 3.2 : Sorgho broyé (250-425 µm)

également permis une homogénéisation de la matière première en s'assurant d'avoir toute les parties de la plante. Le broyage a été réalisé à l'aide de la Pulverisette 14 de la compagnie Fritsch, à une vitesse de 6000 rpm avec un tamis dont les perforations trapézoïdales étaient de 1,0 mm. Une fois les particules broyées, celles-ci ont été récupérées et séparées en fonction de leur taille grâce à une série de tamis donc les tailles des orifices étaient de 2 mm, 850 µm,

425 μm et 250 μm . Les particules restant dans le tamis de 250 μm ont été gardées, les autres ont été re-broyées jusqu'à la taille désirée. Le contenu du bac de récupération, situé en dessous du tamis de 250 μm (particules fines), était quant à lui jeté.

Pour chaque extraction, 10 g de sorgho séché à l'air ont été utilisés. L'humidité initiale de la biomasse était déterminée pour connaître la masse sèche utilisée (voir I.6.a).

I. 2. Solvants utilisés

Plusieurs solvants ont été utilisés, seuls ou en mélanges. La nature des molécules solubilisées variait en fonction de leur affinité avec le solvant (ou mélange) utilisé (Tableau 3.1).

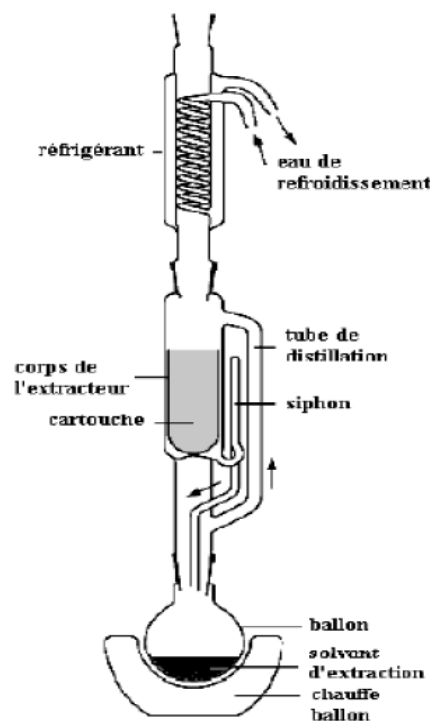
Tableau 3.1 : Les solvants utilisés et leurs affinités avec les molécules

Solvant	Polarité du solvant (moment dipolaire), en debye (D)	Nature des molécules extraites
Toluène ^a	0,43	Apolaires
DMC ^b	0,91	Faiblement polaires
Éthanol ^a	1,74	Moyennement polaires – polaires
Eau ^a	1,85	Polaires

[Sources : ^aAtomer, consulté en mars 2016; ^bTundo et Selva, 2002]

I. 3. La méthode ASTM D1105-96 et les extraction avec l'extracteur Soxhlet

Des extractions suivant la méthode ASTM D1105-96 ont d'abord été réalisées pour déterminer les pourcentages d'extraction obtenus par la méthode de référence. Cette méthode consiste en une succession de trois extractions, soit une extraction en Soxhlet au mélange éthanol/toluène (70/30 v/v), suivie d'une extraction, toujours en Soxhlet, à l'éthanol, pour finir par une hydrodistillation à l'eau bouillante en erlenmeyer. D'autres extractions en Soxhlet ont également été réalisées pour tester l'efficacité de différents solvants. Ces tests ont servi de modèle de comparaison pour les extractions réalisées en réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion eau/DMC (80/20 v/v) au travers du lit de biomasse et en réacteur « batch - piston », avec les ultrasons en présence de la biomasse et la possibilité de travailler sous pression. L'appareil



Source : [Nait Sidi Ahmed, 2012]

Figure 3.3 : Schéma d'un montage d'extraction Soxhlet

d'extraction Soxhlet était constitué d'un ensemble comprenant un ballon mono-col (500 mL), d'un réfrigérant permettant de condenser les vapeurs de solvants et d'un extracteur accueillant une cartouche de cellulose dans laquelle était placé le solide à extraire (Figure 3.3). Le principe d'une extraction en Soxhlet repose sur la réalisation d'une série d'extractions solide-liquide de manière continue à l'aide de solvant chaud, dont la température est légèrement inférieure à la température d'ébullition. À chaque cycle, du solvant frais, exempt de métabolites, entre en contact avec le sorgho afin d'extraire les métabolites et ainsi obtenir une biomasse exempte de ces produits. L'extraction s'effectue jusqu'à ce que la totalité des métabolites soit extraite et se retrouve dans le solvant. En pratique, le chauffe-ballon permet de porter le solvant d'extraction à ébullition. Les vapeurs de solvant montent vers le réfrigérant, via le coude extérieur de l'extracteur Soxhlet. Ces vapeurs sont ensuite condensées au contact du réfrigérant et le solvant liquide tombe dans le corps de l'extracteur où se situe la cartouche de cellulose contenant le sorgho. Les métabolites sont alors solubilisés dans le solvant en fonction de leur affinité avec celui-ci. Le solvant remplit le corps de l'extracteur qui se vidange lorsque le niveau de solvant atteint la hauteur du coude du siphon, emportant les extraits qui se retrouvent dans le ballon. Différentes extractions ont été réalisées à l'aide de ce montage sur des particules de 250-425 μm :

1. Extractions ASTM D1105-96, appelée ASTM « standard » (Annexe F) : obtention des valeurs de références à comparer aux données obtenues avec les autres extractions.
2. Extractions suivant la méthode ASTM D1105-96 mais dont les étapes ont été réduites à 30 minutes chacune pour pouvoir faire une comparaison avec le temps d'extraction en réacteur qui sera de 30 minutes. Appelée méthode ASTM « écourtée ».
3. Extractions à l'eau, à l'éthanol, au toluène ou au DMC pour évaluer le potentiel d'extraction de chaque solvant pris séparément.
4. Extractions avec un mélange eau/DMC (80/20 v/v) pour vérifier le potentiel d'extraction du mélange servant à l'émulsion qui sera utilisée pour les tests en réacteur « batch - piston » et « batch » avec recirculation de l'émulsion. Des extractions ont également été effectuées sur des particules de sorgho brut avec le mélange eau/DMC.

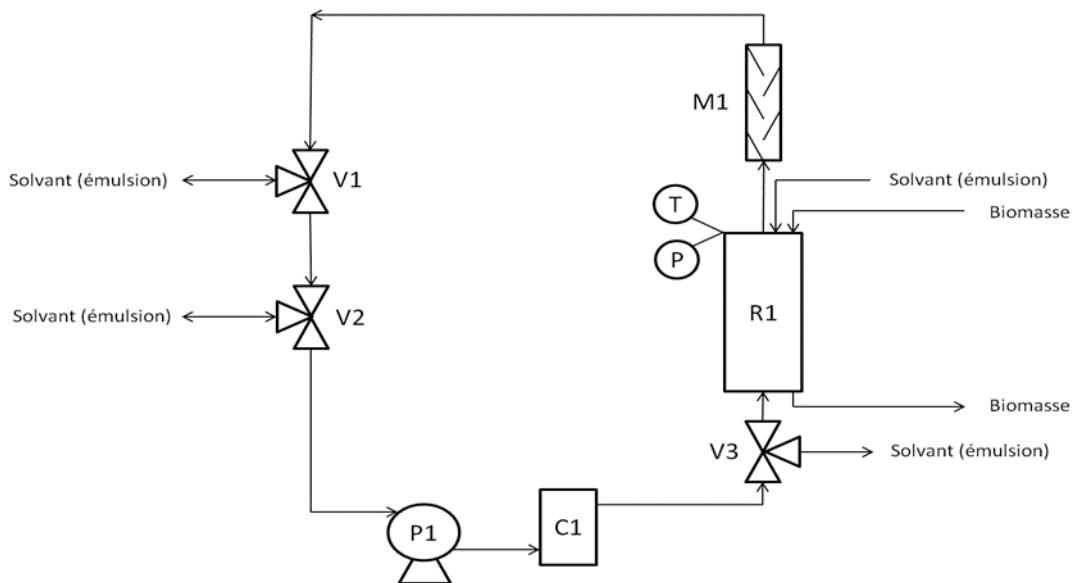
Pour les tests 3 et 4, des extractions ont été faites avec 4 h de chauffage après le premier siphonage, et d'autres avec seulement 30 minutes d'extraction après le premier siphonage.

Pour chaque test, les données suivantes ont été obtenues :

1. Détermination de la perte de masse du sorgho après extraction → rendement d'extraction par perte de masse (Annexe C);
2. Détermination de la masse d'extraits secs obtenus dans chaque solvant (ou mélange de solvant) → rendement d'extraction par masse d'extraits secs (Annexe D).

I. 4. Réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion

Le solvant utilisé pour ces tests est un mélange eau/DMC (80/20 v/v) sous forme d'émulsion préalablement créée par ultrasons. L'extraction se faisait par la recirculation de ce mélange au travers du lit de biomasse, placé dans le corps du réacteur. Une pompe péristaltique à débit variable faisait circuler l'émulsion dans le système via des tuyaux en silicone (Figure 3.4).



C1 = Cellule de recirculation (connexion à la sonde à ultrasons), Cole Parmer (Continuous Flow Cell #GH-04710-91)

M1 = Mixeur statique

P1 = Pompe péristaltique, Mityflex (modèle 4200 à vitesse variable)

R1 = Réacteur d'extraction de la biomasse (cylindre d'acier inoxydable, 15" L x 2.5" Dia.)

V1 et V2 = Vannes pour l'entrée et la sortie de émulsion

V3 = Vanne de vidange du réacteur

(T) = Indicateur de température (thermocouple type K)

(P) = Indicateur de pression (pressure gauge 0-30 psi)

Figure 3.4 : PFD du montage du réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion

L'extraction se faisait par macération, à la température de la pièce. Il n'y avait donc ni chauffage, ni refroidissement du milieu, réduisant ainsi les coûts d'opération dans le cas de la mise à l'échelle du procédé.

Les grandes étapes pour réaliser l'extraction étaient les suivantes (protocole en Annexe G) :

1. Préformer l'émulsion eau/DMC (80/20 v/v) dans un bécher;
2. Visser la sonde à la cellule de recirculation (Figure 3.5);
3. Introduire la biomasse dans le corps du réacteur (2 tamis sont placés aux extrémités du cylindre) (Figure 3.6 et Figure 3.7);
4. Alimenter le système avec l'émulsion préformée;
5. Mettre en recirculation l'émulsion à un débit fixé. En fonction du test, les ultrasons sont mis en fonctionnement pour garantir le maintien de l'émulsion, ou non;
6. Après l'extraction, arrêt de la recirculation (et des ultrasons le cas échéant). Le mélange eau/DMC est récupéré ainsi que la biomasse. Le tout était filtré sur un fritté de porosité grossière (40-60 μm);
7. Le fritté contenant la biomasse était mis à sécher à 105 °C pour obtenir la masse sèche post-extraction afin de déterminer le rendement d'extraction par perte de masse;
8. L'émulsion était séparée par filtration (4500 G, 3 minutes). Un échantillon de la phase aqueuse était congelé puis lyophilisé, avant d'être séché au four à vide, pour pouvoir déterminer la masse sèche des extraits aqueux totaux afin de déterminer le rendement d'extraction dans la phase aqueuse. De la même façon, un échantillon de la phase DMC était évaporé au four à vide pour déterminer le rendement d'extraction de la phase organique.

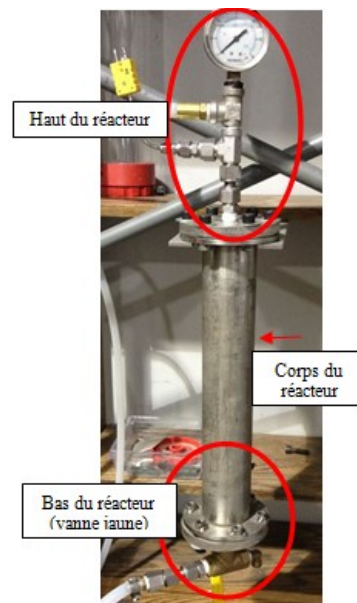


Figure 3.7 : Corps du réacteur



Figure 3.5 : Sonde vissée à la cellule de recirculation

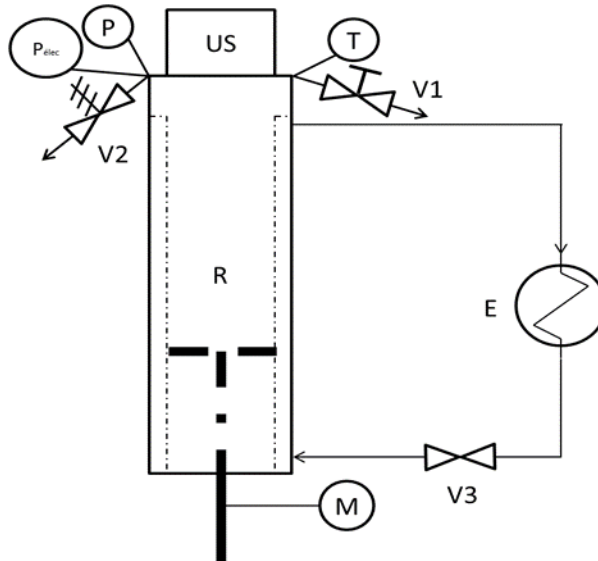


Figure 3.6 : Tamis et joint aux extrémités du corps du réacteur

I. 5. Réacteur « batch – piston »

Dans le réacteur « batch - piston » (Figure 3.8), la biomasse, l'eau et le DMC étaient en contact direct avec la sonde à ultrasons. En plus de former l'émulsion eau/DMC, les ultrasons pouvaient agir sur la biomasse en brisant les cellules (Figure 2.10) et ainsi libérer le contenu cellulaire. En théorie, cette sonolyse facilite l'extraction des métabolites et améliore possiblement les rendements d'extraction et/ou réduit les temps d'opération.

À l'inverse du réacteur avec recirculation de solvants, le réacteur « batch - piston » permettait l'application d'une pression interne lors de l'opération, ce qui pouvait améliorer l'extraction. Le réacteur était automatisé de telle sorte que la pression interne était régulée au cours de l'opération pour garantir la reproductibilité des résultats.



R = Réacteur piston d'extraction de biomasse (cylindre d'acier inoxydable, 21" L x 2.5" Dia., double paroi pour le réfrigérant)

US = Sonde à ultrasons fixée en haut du réacteur (750W, Cole Parmer)

E = Bain refroidissant (Polystat®, Cole Parmer)

V1 = Vanne manuelle pour la purge d'air

V2 = Relief valve (100 psi)

V3 = Vanne de circulation du refroidissant

(T) = Indicateur de température (Thermocouple type K)

(P) = Indicateur de pression (Jauge à pression, 0-100psi)

(P_{élec}) = Indicateur de pression (Transducteur Omega)

(M) = Moteur pour le piston (Stepper Motor Nema 17)

Figure 3.8 : PFD du réacteur « batch - piston »

Les grandes étapes à suivre pour opérer ce réacteur étaient les suivantes (protocole détaillé en Annexe H) :

1. Sur l'ordinateur, fixer la pression d'opération désirée (0 – 30 psig) ainsi que les limites de tolérance et le déplacement d'ajustement du piston;
2. Fixer les paramètres d'opération de la sonde à ultrasons : sonde de 750 W (Cole Parmer) :
 - Temps de fonctionnement (5-30 min);
 - Pulsations (Sans ou 5 sec « on »/ 1 sec « off »);
 - Amplitude (40 – 95 %);
3. Insérer la biomasse, l'eau et le solvant dans le corps du réacteur (Figure 3.9);
4. Fixer la tête du réacteur (vannes, thermocouple, jauge à pression) (Figure 3.10) au corps du réacteur et viser la sonde à ultrasons à la tête du réacteur pour fermer le système;
5. Après la purge d'air, une fois la pression d'opération atteinte, mettre en fonctionnement la sonde à ultrasons;
6. À la fin de l'extraction : arrêter la sonde à ultrasons et descendre la pression interne;
7. Récupérer le mélange eau/DMC/biomasse. Le tout était filtré sur un fritté de porosité grossière (40-60 μm);
8. Le fritté contenant la biomasse était mis à sécher à 105 °C pour obtenir la masse sèche post-extraction et déterminer le rendement d'extraction par perte de masse;
9. L'émulsion était séparée par centrifugation (4500 G, 3 minutes) : volume d'eau et volume de DMC connu. Un échantillon de la phase aqueuse était congelé puis lyophilisé, avant d'être séché au four à vide, pour pouvoir déterminer la masse sèche des extraits aqueux totaux et donc de déterminer le rendement d'extraction dans la phase aqueuse. De la même façon, un échantillon de la phase DMC était évaporé pour déterminer le rendement d'extraction de la phase organique.

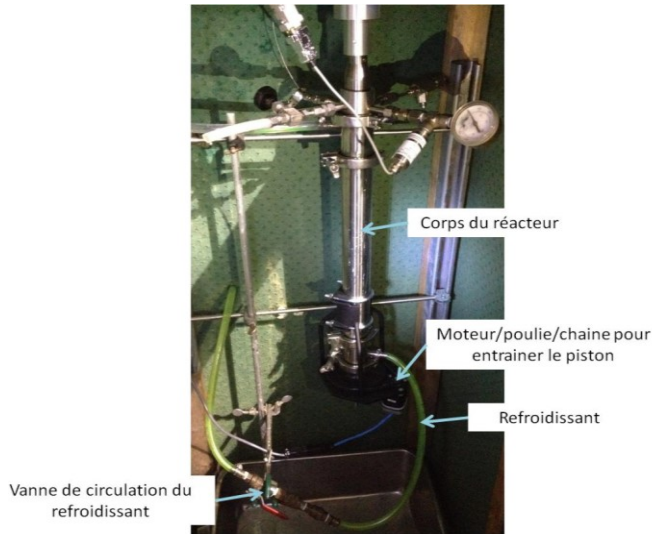


Figure 3.9: Réacteur « batch » d'extraction de biomasse

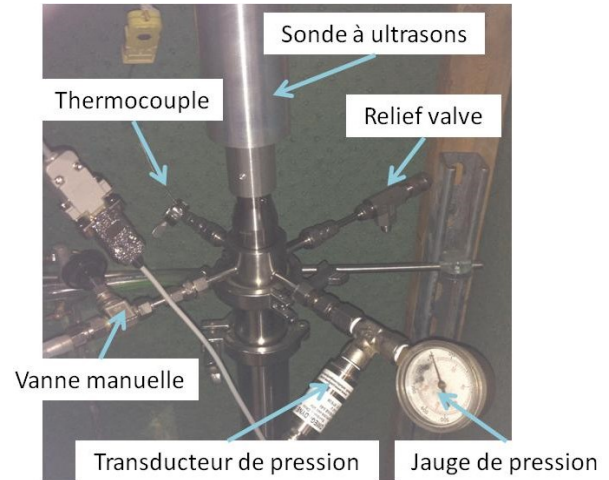


Figure 3.10: Tête du réacteur

Les extractions faites avec le réacteur « batch - piston » ont été planifiées via deux logiciels de plan d'expérimentation « Design Expert » et « JMP » afin de minimiser le nombre d'expériences à effectuer tout en maximisant les connaissances sur l'influence de chaque paramètre étudié (amplitude des ultrasons, pression et temps d'opération, taille des particules). Cela a permis de construire un modèle prédictif des résultats, d'identifier les conditions optimales en fonction des réponses désirées et de connaître l'influence de chaque paramètre sur les réponses via une analyse ANOVA. Les résultats ont également été exploités avec le logiciel Matlab pour construire les surfaces de réponses.

I. 6. Détermination de l'efficacité de l'extraction

I. 6. a Pourcentage d'humidité en base sèche de la biomasse

Afin de déterminer les rendements d'extraction, et donc l'efficacité de la méthode utilisée, il fallait connaître la masse sèche initiale de la biomasse utilisée, et donc son humidité. Pour cela, la biomasse était séchée à 105°C jusqu'à stabilisation de la masse. Le four utilisé était un four du modèle ED 240 de la compagnie Binder, avec une trappe pour la ventilation.

Pour le sorgho, 24 heures de séchage étaient suffisantes pour atteindre une masse stable. En connaissant la masse initiale de sorgho mise à sécher, il était alors possible de déterminer son pourcentage d'humidité (équation 3.1). Le protocole détaillé est présenté à l'Annexe B.

$$\text{Humidité initiale de la biomasse (\%)} = \frac{\text{Biomasse humide (g)} - \text{Biomasse sèche (g)}}{\text{Biomasse sèche (g)}} \times 100 \quad (3.1)$$

I. 6. b Masse sèche initiale de la biomasse et rendements d'extraction

Une fois le pourcentage d'humidité de la biomasse connue, la masse sèche de l'échantillon était obtenue en utilisant l'équation 3.2.

$$\text{Masse sèche initiale de la biomasse avant extraction (g)} = \frac{\text{Biomasse humide avant extraction (g)}}{1 + \text{Humidité initiale de la biomasse (\%)}} \quad (3.2)$$

Celle-ci servait à déterminer la perte de masse du sorgho après extraction et donc à calculer le rendement d'extraction par perte de masse du sorgho (équation 3.3, protocole en Annexe C).

$$\text{Perte de masse de la biomasse (\%)} = \frac{\text{Biomasse sèche avant extraction (g)} - \text{Biomasse sèche après extraction (g)}}{\text{Biomasse sèche avant extraction (g)}} \times 100 \quad (3.3)$$

I. 6. c Masse d'extraits secs et rendements d'extraction

Pour la phase aqueuse, un échantillon de volume connu était congelé, après quoi, l'échantillon était placé dans un lyophilisateur (protocole Annexe D et Annexe E) pour récupérer les extraits secs tout en évitant la dégradation thermique des molécules. La lyophilisation se faisait avec une pression de -14 psig et un piège à -40 °C.

Pour les solvants organiques (toluène, éthanol, DMC), un échantillon de volume connu était placé dans un four à 40 °C, avec une pression de -14 psig, jusqu'à évaporation complète du solvant.

Les masses des extraits secs des échantillons étaient ensuite pesées et rapportées au volume total de la phase (aqueuse ou organique), suivant l'équation 3.4, pour obtenir la masse d'extraits secs pour la totalité de la phase concernée.

$$\text{Extraits secs (phase aqueuse/organique) (g)} = \frac{\text{Extraits secs de l'échantillon (g)} \times \text{volume totale de la phase (mL)}}{\text{Volume de l'échantillon (mL)}} \quad (3.4)$$

$$\text{Extraction par masse d'extraits secs (\%)} = \frac{\text{Masse sèche des extraits totaux (g)}}{\text{Masse sèche initiale de la biomasse avant extraction (g)}} \times 100 \quad (3.5)$$

En comparant la masse d'extraits secs après extraction avec la masse sèche initiale de sorgho, le rendement d'extraction par masse d'extraits secs était également déterminé (équation 3.5, protocole en Annexe D). Le tout permettait de déterminer la proportion en molécules hydrophobes et hydrophiles.

I. 6. d Traitements post-extraction de la biomasse

Pour la méthode ASTM « standard » et la méthode ASTM « écourtée », entre l'extraction au mélange éthanol/toluène et l'extraction à l'éthanol, la cartouche contenant la biomasse était séchée à l'air libre une nuit pour laisser le solvant s'évaporer. Après l'extraction à l'éthanol, la biomasse sèche était retirée de la cartouche pour être introduite dans un erlenmeyer pour l'étape d'hydrodistillation à l'eau chaude (~100 °C). La cartouche était placée au four à 105 °C pour en déterminer la masse sèche finale et donc la masse de sorgho restant dans la cartouche le cas échéant. À la fin de l'hydrodistillation, le mélange eau/biomasse était filtré sur un fritté de porosité grossière (40-60 µm) préalablement pesé. Après séchage au four à 105 °C, la masse de sorgho sec post-extraction était déterminée pour avoir le rendement d'extraction par perte de masse (équation 3.3) (Tableau 3.2).

Dans le cas des extractions en Soxhlet (toluène, éthanol, eau, DMC et eau/DMC), à la fin de l'extraction, la cartouche contenant la biomasse était enlevée du corps de l'extracteur. Elle était mise à sécher sous la hotte pour que le solvant s'évapore et était ensuite placée au four à 105 °C jusqu'à séchage complet. La masse de la cartouche contenant la biomasse était ensuite pesée pour déterminer la masse de sorgho sec post-extraction. Cela permettait d'obtenir le rendement d'extraction par perte de masse (équation 3.3) (Tableau 3.2).

Concernant le réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion et le réacteur « batch -piston », de la même façon que pour l'étape d'hydrodistillation à l'eau chaude vu précédemment, la biomasse était filtrée sur un fritté de porosité grossière puis séchée au four à 105 °C pour le calcul du rendement d'extraction (équation 3.3) (Tableau 3.2).

Tableau 3.2 : Traitement post-extraction de la biomasse pour chaque type d'extraction

	Filtration sur un fritté grossier	Séchage à l'air	Séchage au four à 105°C	Rendement par perte de masse du sorgho
ASTM standard et écourtée	Après hydrodistillation à l'eau chaude	Entre les étapes	Cartouche. Biomasse dans le fritté	✓
Soxhlet	✗	Avant séchage au four	Biomasse dans la cartouche	✓
« batch » avec recirculation de l'émulsion	✓	✗	Biomasse dans le fritté	✓
« batch -piston »	✓			✓

I. 6. e Traitements post-extraction des solvants

Dans le cas du mélange eau/DMC (80/20 v/v), il était nécessaire de séparer les deux solvants afin d'avoir le rendement en métabolites hydrophobes et hydrophiles. Pour cela, le mélange était centrifugé à 4500 G pendant 3 minutes. La centrifugeuse était une Centrifuge 5804 de la marque Eppendorf (Figure 3.15). Les tubes utilisés, de 50 mL, étaient en polypropylène à fond conique. Un échantillon de solvant organique de volume connu était placé au four à 40 °C avec une pression de -14 psig jusqu'à évaporation complète du solvant. Le rendement d'extraction par masse d'extraits hydrophobes pouvait alors être déterminé (équation 3.5) (Tableau 3.3).

Pour la phase aqueuse (Tableau 3.3), un échantillon de volume connu était placé au congélateur puis dans le lyophilisateur afin de récupérer les extraits secs hydrophiles. L'équation 3.5 permettait alors d'obtenir le rendement d'extraction par masse d'extraits hydrophiles.

La somme des rendements d'extraits hydrophiles et hydrophobes permettait d'avoir la quantité totale d'extractibles obtenus par la méthode utilisée (Tableau 3.3).

Tableau 3.3 : Traitements post-extraction des solvants pour chaque type d'extraction

	Séparation du mélange eau/DMC	Solvants organiques	Eau	Rendement par masse d'extraits secs
ASTM et ASTM écourtée	-	Évaporation sous vide à 40°C	Congélation et lyophilisation	✓
Soxhlet	Centrifugation à 4500 G, 3 minutes			✓
« batch » avec recirculation de l'émulsion				✓
« batch -piston »				✓

I. 7. Analyses par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Des analyses FTIR ont été effectuées sur du sorgho sucré avant et après extraction pour vérifier si des réactions chimiques entre la cellulose et le DMC s'étaient faites. Celles-ci ont été effectuées sur un appareil Variant, modèle 640 IR. Les spectres obtenus ont été analysés avec le programme Agilent Resolution Pro. L'analyse a été faite sur une plage de 4000 cm⁻¹ à 400 cm⁻¹ avec une résolution de 4 cm⁻¹. Pour chaque analyse, 2 à 5 % de sorgho de 250-425 µm ont été ajoutés à du bromure de potassium pour former des pastilles.

L'analyse FTIR a permis d'identifier les fonctions chimiques présentes dans le matériau par l'absorption d'un rayonnement infrarouge. Ceci reposait sur la détection de vibrations caractéristiques à chaque fonction chimique. La transformée de Fourier des absorbances

obtenues a permis de doser les différentes fonctions chimiques [Biophyresearch, page consultée en mai 2016].

I. 8. Analyses statistiques

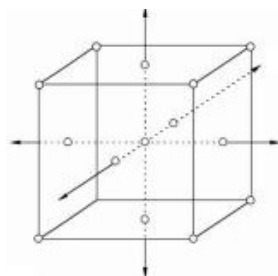
I. 8. a Réplicats

Les extractions effectuées avec la méthode ASTM (« standard » et « écourtée ») et en réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion au travers du lit de biomasse ont été effectuées en duplicatas. Si le RSD du rendement en extraits secs totaux était inférieur à 5%, les extractions étaient considérées comme répétables et un triplicata n'était pas effectué.

Pour les extractions effectuées en réacteur « batch-piston », le nombre de réplicat était déterminé par le plan d'expérience. Dans le cas d'un doute sur les résultats obtenus, des réplicats supplémentaires ont été effectués.

I. 8. b Plan d'expérience pour le réacteur « batch-piston »

Concernant les extractions réalisées avec le réacteur « batch-piston », celles-ci ont été planifiées en suivant un plan d'expérience élaboré avec le logiciel JMP. L'utilisation d'un plan d'expérience permettait d'obtenir un maximum d'informations en un minimum de tests. Considérant le nombre de paramètres à faire varier et le nombre de valeurs à tester pour chaque paramètre (Tableau 3.4), le choix s'est porté sur un plan pour surface de réponse de type composite centré (Figure 3.11).



Source : <http://tinsson.perso.univ-pau.fr/>

Figure 3.11 : Représentation d'un plan composite centré

Tableau 3.4 : Valeurs des paramètres testés en réacteur « batch-piston »

Taille des particules	250 – 425 μm / brut
Pression d'opération (psig)	0 / 15 / 30
Temps d'extraction (min)	5 / 17,5 / 30
Amplitude des ultrasons (%)	45 / 70 / 95

Le modèle d'analyse associé à ce type de plan est un modèle quadratique (équation 3.6). Les points au centre du domaine ont été répétés trois fois pour chaque taille de particules afin d'évaluer la variabilité associée à la biomasse. Le plan d'expérience suivi (Tableau 3.5) comportait ainsi 22 tests à effectuer.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=0}^k \beta_i x_i + \sum_{i,j=0}^k \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=0}^k \beta_{ii} x_i^2 \quad (3.6)$$

Tableau 3.5 : Plan d'expérience des extractions en « batch - piston » sur le sorgho sucré, avec le mélange eau/DMC (80/20 v/v)

Essai	Amplitude	Pression	Temps	Taille des particules
1	45	15	30	250-425µm
2	95	0	30	250-425µm
3	70	30	5	BRUT
4	95	0	5	BRUT
5	70	30	30	250-425µm
6*	95	15	30	BRUT
7	45	30	30	BRUT
8*	95	30	30	BRUT
9	95	30	17,5	250-425µm
10	45	15	5	BRUT
11	70	0	30	BRUT
12*	70	0	5	250-425µm
13	45	30	5	250-425µm
14	45	0	17,5	250-425µm
15	45	0	5	BRUT
16*	95	15	5	250-425µm
17*	70	15	17,5	250-425µm
18	70	15	17,5	250-425µm
19*	70	15	17,5	BRUT
20	70	15	17,5	250-425µm
21	70	15	17,5	BRUT
22**	70	15	17,5	BRUT

*Tests effectués en duplicata pour vérifier les résultats

**Test effectué en triplicata pour vérifier les résultats

I. 8. c Analyses statistiques des résultats

Pour les méthodes ASTM (« standard » et « écourtée »), les extractions en Soxhlet et en réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion à travers le lit de biomasse, les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide des fonctionnalités intégrées de Microsoft Excel (version 2013). Dans le cas de la comparaison de deux conditions, un test d'hypothèse de Student a été réalisé. Dans le cas de comparaisons multiples, une analyse de variance (ANOVA) a été effectuée, suivi d'un test post-hoc de comparaisons multiples de Tukey. Ce dernier équivaut au test de Student mais prend en compte la possibilité d'interactions entre les paramètres étudiés.

Concernant les extractions en réacteur « batch-piston », les résultats obtenus ont été analysés avec le logiciel JMP[®] pour déterminer les paramètres d'extraction significatifs et les conditions optimales à utiliser pour maximiser les rendements en extraits secs. Cependant, le logiciel JMP ne permettant pas de différencier les conditions optimales pour les deux tailles de particules, le logiciel Design Expert[®] (version 8) a été utilisé pour approfondir l'analyse des résultats. Le logiciel MatLab a également été utilisé pour obtenir les surfaces de réponses et prédire les valeurs des rendements en fonction des paramètres choisis.

À chaque fois, les résultats étaient considérés comme statistiquement différents lorsque la valeur-p était inférieure ou égale à 0,05. L'utilisation d'un système visuel a été mis en place pour faciliter la lecture des analyses :

- Différence non-significative (valeur-p > 0,05) : °
- Valeur-p ≤ 0,05 : *
- Valeur-p ≤ 0,01 : **
- Valeur-p ≤ 0,001 : ***
- Valeur-p ≤ 0,0001 : ****

À noter que pour les analyses ANOVA, les paramètres non-significatifs étaient enlevés du modèle de prédiction, excepté si le paramètre seul était non-significatif mais qu'il intervenait dans une combinaison de paramètres qui, elle, était significative.

II. Résultats et interprétations

II. 1. Extractions en extracteur Soxhlet

II. 1. a Méthode ASTM D1105-96

La méthode ASTM D1105-96 (révisée en 2013) permet d'extraire les différents composés de la biomasse lignocellulosique pour obtenir une biomasse finale exempte d'extractibles (« Extractive-Free wood »). De plus, cette méthode permet d'avoir une base de comparaison pour les différents tests réalisés dans le cadre de ce projet. Il sera en effet possible de comparer les rendements d'extraction obtenus avec cette méthode à ceux obtenus avec les différents tests réalisés. Les tests ont été effectués en duplicatas (Figure 3.12), avec 10 g de copeaux de sorgho sucré, de taille comprise entre 245 et 450 μm (40-60 mesh). L'analyse statistique des résultats obtenus est résumée dans le Tableau 3.6.

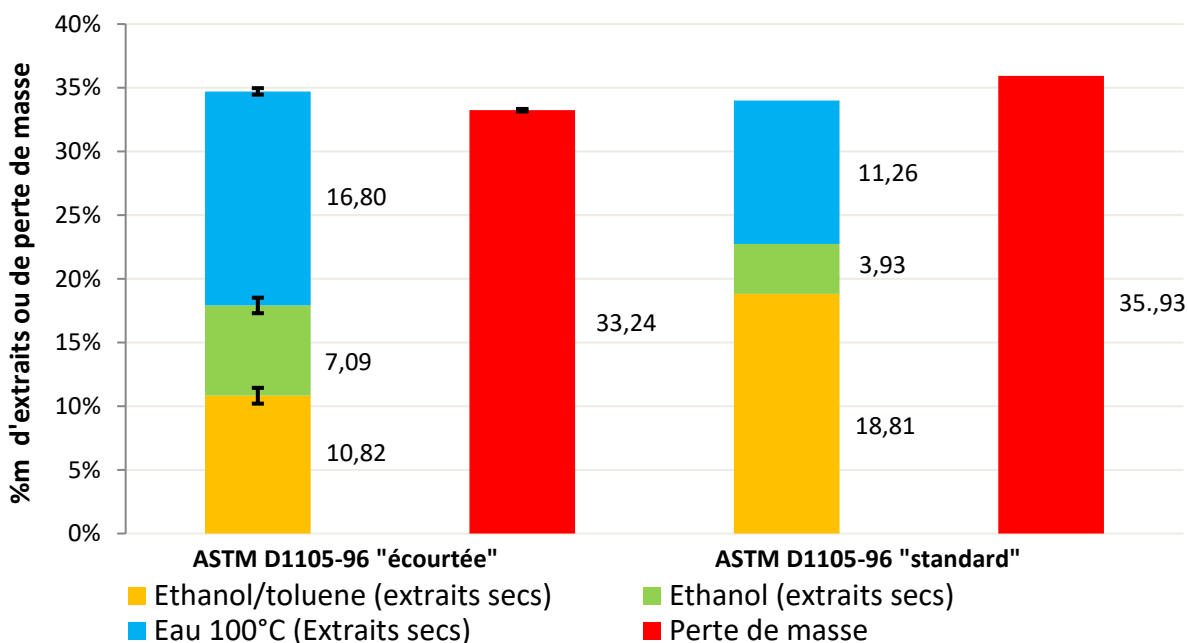


Figure 3.12 : Efficacité (%) de la méthode d'extraction ASTM D1105-96 en fonction de la durée des étapes

Les résultats obtenus (Figure 3.12) avec la méthode ASTM D1105-96 « standard » (2 x 4 h + 3 h) donne un pourcentage moyen d'extraction par perte de masse du sorgho de 35,93 % et un pourcentage moyen d'extraits secs totaux de 34,01 %. En comparaison, avec la méthode « écourtée » basée sur l'ASTM D1105-96 (3 x 30 minutes), la perte de masse du sorgho donne un pourcentage moyen d'extraction de 33,24 % pour un pourcentage en extraits secs équivalent de 34,71 %.

Dans un premier temps, l'analyse des différences observées entre la perte de masse du sorgho et les extraits secs totaux, pour une méthode donnée (Tableau 3.6), est effectuée. Pour la méthode « standard », la différence significative observée pourrait s'expliquer par la perte des composés thermosensibles. À l'inverse, pour la méthode « écourtée », il n'y a pas de différence significative entre la perte de masse du sorgho et les extraits secs totaux. Cette observation viendrait corroborer l'hypothèse faite pour la méthode « standard » de la perte des molécules thermosensibles. Un temps d'exposition prolongé à des solvants chauds, voire bouillant dans le cas de l'eau, favoriserait la perte de ces composés. De plus, la différence significative observée entre les pertes de masse du sorgho de la méthode « écourtée » et « standard » tend à confirmer la dégradation des composés thermolabiles lors de la méthode « standard ». L'étude de Ramluckan *et coll.* (2014) vient soutenir cette hypothèse puisqu'ils ont observé une diminution des rendements en lipides de microalgues, après 3 heures d'extraction, attribuée à la dégradation de composés thermosensibles.

Tableau 3.6 : Analyses statistiques des résultats des extractions suivant la méthode ASTM

Valeur-p	Perte de masse vs extraits secs		ASTM « écourtée » vs ASTM « standard »				
	ASTM « écourtée »	ASTM « standard »	Perte de masse	Extraits totaux	Extraction à l'éthanol/toluène	Extraction à l'éthanol	Extraction à l'eau
	°	*	*	°	***	**	***

° : valeur-p > 0,05; * : valeur p ≤ 0,05; ** : valeur-p ≤ 0,01; *** : valeur-p ≤ 0,001

Dans le cas d'une comparaison entre les deux méthodes, aucune différence significative n'est observée quant aux rendements en extraits secs totaux. Une étude de 2013 portant sur l'extraction d'huile d'olive en Soxhlet, avec différents solvants et différents temps d'extraction, a mis en évidence l'existence d'un plateau lors de l'extraction, avec un maximum atteint au bout d'une heure [Banat *et al.*, 2013]. Ainsi, l'étude de la variation du temps d'extraction montre que les rendements obtenus suivent une courbe logarithmique, l'augmentation des rendements se faisant de moins en moins significative avec le temps. L'absence de différence significative dans les rendements d'extraits totaux, entre un temps d'extraction de 1,5 heure et de 11 heures, s'expliqueraient ainsi par la présence d'un plateau dans les taux d'extraction après 1,5 heure. Quant aux rendements en extraits secs pour chaque étape d'extraction, des différences très significatives sont visibles. Ainsi, la méthode « standard » permet d'extraire beaucoup plus de composés avec le mélange éthanol/toluène que la méthode « écourtée », avec 18,81 % d'extraits

au lieu de 10,82 %. À l'inverse, pour les extraits obtenus avec l'éthanol et l'eau, c'est la méthode « écourtée » qui permet d'obtenir le plus d'extraits, avec des rendements de 7,09 % au lieu de 3,93 % pour l'éthanol et de 16,80 % au lieu de 11,26 % pour l'eau. Dans la méthode « standard », le mélange éthanol/toluène (70/30 v/v) est en contact avec le sorgho pendant 4 heures, ce qui va permettre d'extraire la totalité des composés apolaires et une grande partie des composés moyennement polaires et polaires, solubles dans l'éthanol. Il ne va donc rester qu'une faible quantité de composés extractibles dans l'éthanol pour la deuxième étape. L'hydrodistillation va permettre de finir l'extraction des composés polaires qui ne sont pas solubles dans l'éthanol. En revanche, pour la méthode « écourtée », le mélange éthanol/toluène (70/30 v/v) n'est en contact avec le sorgho que 30 minutes. Il reste donc plus de composés solubles dans l'éthanol que dans la méthode « standard ». Ceux-ci vont être extraits lors de la seconde extraction à l'éthanol. La macération à l'eau va finalement venir capter le reste des composés polaires.

Ainsi, si l'on considère la quantité d'extraits totaux obtenus, la méthode d'extraction ASTM D11105-96 « écourtée » est suffisante pour avoir les mêmes rendements que la méthode « standard ». Cependant, si le but est d'obtenir le maximum d'extraits organiques apolaires ou faiblement à moyennement polaires, c'est la méthode « standard » qui à privilégier.

En fonction du solvant et de sa polarité, la nature des molécules extraites est différente. Pour avoir un aperçu de la polarité, et de la quantité, des différentes molécules présentes dans le sorgho, des extractions avec différents solvants ont été effectuées (résultats en section II.1.b).

II. 1. b Efficacité des différents solvants

Il s'agissait ici de déterminer l'efficacité de chaque solvant pour l'extraction de composés extractibles du sorgho sucré. Ces extractions donnent un aperçu de la proportion des différents types de molécules (apolaires, faiblement/moyennement polaires et polaires) contenues dans le sorgho sucré (Tableau 3.1). Des extractions en extracteur Soxhlet ont donc été réalisées pendant 30 minutes et 4 h (après le premier siphonage) avec différents solvants (Figure 3.13).

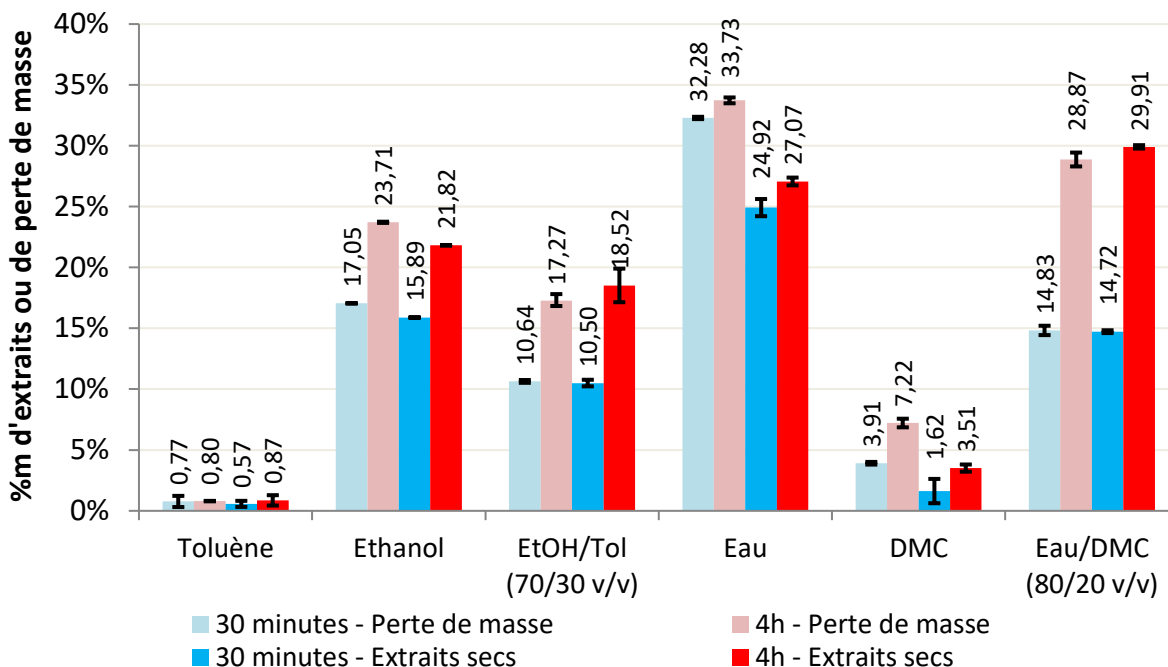


Figure 3.13 : Efficacité (en %) des extractions en Soxhlet avec différents solvant, en 30 minutes et 4h d'extraction après le premier siphonage (sorgho sucré, 250-425µm)

Dans un premier temps, il est possible de voir des différences de rendements entre les données obtenues par perte de masse du sorgho et par masse d'extraits secs (Figure 3.12). Cependant, selon le tableau 3.7, ces différences ne sont non-significatives que pour l'eau et le DMC, quel que soit le temps d'extraction, et pour l'éthanol après 4 h d'extraction. Ces différences pourraient s'expliquer par la dégradation des composés thermosensibles ou par des pertes de solvants lors des manipulations.

Tableau 3.7 : Analyses statistiques des différences entre les pertes de masse du sorgho et les extraits secs correspondants

	Toluène		Éthanol		Éthanol / Toluène		Eau		DMC		Eau / DMC	
	30 min	4 h	30 min	4 h	30 min	4 h	30 min	4 h	30 min	4 h	30 min	4 h
Valeur-p	o	o	o	*	o	o	***	***	**	***	o	o

o : valeur-p > 0,05; * : valeur p ≤ 0,05; ** : valeur-p ≤ 0,01; *** : valeur-p ≤ 0,001

Le but étant d'optimiser l'extraction des métabolites primaires et secondaires du sorgho, la discussion est orientée ici sur les masses d'extraits secs obtenues plutôt que sur la perte de masse du sorgho.

Ainsi, pour chaque solvant, la comparaison entre les rendements en 30 minutes et en 4 heures est effectuée (Tableau 3.8). Les rendements obtenus en 4h sont significativement supérieurs à

ceux obtenus en 30 minutes, exceptés pour les extractions au toluène. Cette augmentation des rendements s'explique par le temps plus long de contact entre la biomasse et le(s) solvant(s), favorisant l'extraction. De plus, en fonction du solvant utilisé, la différence d'efficacité est plus ou moins importante : < 0,3 % pour le toluène à 15 % pour le mélange eau/DMC. Cela peut s'expliquer par l'affinité plus ou moins élevée des molécules extraites et par leur accessibilité. L'étude réalisée par Banat *et coll.* (2013) vient appuyer ces observations puisqu'ils avaient démontré qu'en fonction du solvant utilisé, le plateau de la courbe logarithmique des rendements d'extraction arrivait plus ou moins tôt, au cours de l'extraction. Le plateau est donc atteint plus ou moins rapidement en fonction de la quantité d'extraits solubles dans le solvant utilisé.

Tableau 3.8 : Analyses statistiques des différences entre extraits secs en 30 minutes et en 4 heures

	Toluène	Éthanol	Éthanol / Toluène	Eau	DMC	Eau / DMC
Valeur-p	°	***	***	**	*	***

° : valeur-p > 0,05; * : valeur p ≤ 0,05; ** : valeur-p ≤ 0,01; *** : valeur-p ≤ 0,001

Grâce à la Figure 3.12, il est également possible de constater des différences d'efficacité d'extraction des solvants testés. Cela reflète la proportion des différentes molécules extractibles en fonction de leur polarité. Ainsi, en 30 minutes d'extraction, le toluène extrait 0,57 % de molécules. Le DMC permet d'obtenir 1,6 % d'extraits mais l'augmentation par rapport au toluène n'est pas significative (valeur-p > 0,05). La polarité de l'éthanol lui permet de solubiliser 15,89 % de composés. Quant à l'eau, qui est le solvant le plus polaire, elle extrait jusqu'à 24,92 % de molécules dans le même temps. Cette augmentation s'explique par la grande teneur en sucres du sorgho utilisé. Pour les extractions de 4 h, les extraits dans le toluène montent à 0,87 % mais comme précisé précédemment, cette augmentation n'est pas significative. Cependant, à l'inverse des extractions en 30 minutes, le DMC permet ici d'obtenir significativement plus d'extraits (valeur-p < 0,05), soit 3,51 % d'extraits secs. Le même schéma dans l'ordre d'efficacité des solvants, par rapport aux extractions en 30 minutes, est suivi, avec l'éthanol pouvant solubiliser 21,82 % d'extraits, et l'eau venant extraire 27,07 % de métabolites. Le sorgho sucré utilisé contiendrait donc peu de molécules apolaires et serait très riches en composés polaires, explicable par la haute teneur en sucres libres de la plante [Billa *et al.*, 1997]. Des études menées par Banat *et coll.* (2013), sur l'huile d'olive, et par Ramluckan *et coll.* (2014), sur la chlorophylle et les lipides de microalgues, ont également démontrés des différences d'efficacité entre les divers solvants utilisés, attribuables aux différences de solubilité des molécules étudiées dans ces solvants.

Les mélanges de solvants (éthanol/toluène 70/30 v/v et eau/DMC 80/20 v/v) permettent de solubiliser à la fois les métabolites polaires et ceux moins polaires (voire apolaires). De la même manière que pour les solvants pris séparément, les rendements obtenus avec les mélanges augmentent significativement avec le temps d'extraction (valeur-p < 0,001). Concernant leur niveau d'efficacité par rapport aux autres solvants peut varier en fonction du temps d'extraction. Pour ce qui est du mélange éthanol/toluène, celui-ci est toujours plus efficace que le DMC et moins efficace que l'éthanol seul, avec des rendements de 10,50 % en 30 minutes et de 18,52 % en 4 h. La proportion du mélange, éthanol/toluène 70/30 v/v, et la température d'ébullition de l'éthanol (78 °C) étant plus beaucoup faible que celle du toluène (110 °C), la majorité des extraits obtenus avec le mélange proviennent de l'éthanol, qui va s'évaporer plus rapidement que le toluène et donc être plus souvent en contact avec la biomasse. La plus faible quantité en éthanol du mélange par rapport au solvant pris seul viendrait expliquer la diminution des rendements pour le mélange éthanol/toluène par rapport à l'éthanol seul. Dans le cas du mélange eau/DMC, en 30 minutes, celui-ci se situe entre le mélange éthanol/toluène et l'éthanol, avec 14,72 % d'extraits. Cependant, en 4 heures, ce mélange est le plus efficace de tous les solvants, avec 29,91 % d'extraits. De la même manière que pour le mélange éthanol/toluène, la légère différence du point d'ébullition de l'eau (100 °C) et du DMC (90 °C) peut expliquer les différences observées. En 30 minutes, le faible nombre de siphonages et le fait que le DMC s'évapore plus rapidement que l'eau, celui-ci viendrait extraire une part plus importante des extraits totaux qu'en 4 heures. Le temps prolongé d'exposition viendrait diminuer l'influence de la légère différence de température d'ébullition des deux solvants. Il est ainsi possible de constater que les rendements obtenus en 4h avec le mélange eau/DMC sont quasiment équivalents à la somme des rendements en DMC et en eau pour le même temps d'extraction.

En conclusion, l'efficacité d'extraction des solvants diffère en fonction de leur polarité et de la quantité des métabolites solubles dans ceux-ci [Banat *et al.*, 2013; Ramluckan *et al.*, 2014]. Dans le cas du sorgho sucré utilisé ici, l'efficacité des solvants en Soxhlet est la suivante (masse d'extraits secs) :

- 30 minutes : **eau** > **éthanol** > **eau/DMC** > éthanol/toluène > DMC > toluène
- 4 h : **eau/DMC** > **eau** > **éthanol** > éthanol/toluène > DMC > toluène

Le mélange eau/DMC donnant les meilleurs rendements après 4 heures d'extraction, il était intéressant de comparer l'efficacité de ce mélange aux résultats obtenus avec la méthode ASTM.

II. 1. c Efficacité du mélange eau/DMC (80/20 v/v) par rapport à la méthode ASTM D115-96

Ce projet portait sur l'efficacité de l'extraction du mélange eau/DMC (80/20 v/v). La méthode de référence étant l'ASTM D1105-96, une comparaison de l'efficacité de ce mélange en Soxhlet par rapport à la méthode ASTM était nécessaire (Figure 3.14).

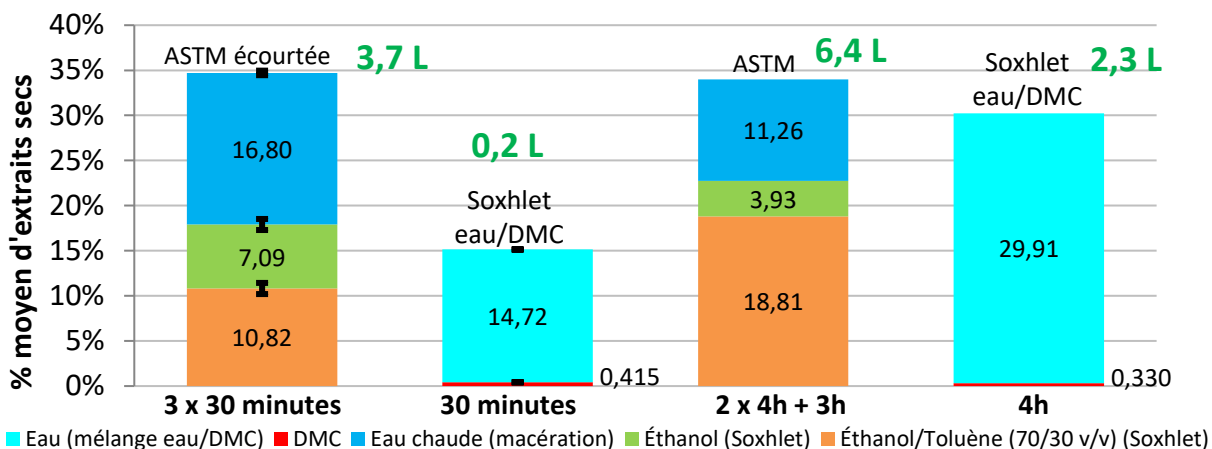


Figure 3.14 : Comparaison d'efficacité (%) de la méthode ASTM D115-96 à l'extraction en Soxhlet au mélange eau/DMC (80/20 v/v), en 30 minutes et 4 heures par étapes, sur du sorgho sucré (250-425 µm)

Pour la méthode ASTM D1105-96, il a été démontré que la méthode « écourtée » est aussi efficace que la méthode « standard » quant aux extraits secs totaux et que la différence se fait au niveau des extraits obtenus à chaque étape.

Concernant l'extraction en Soxhlet au mélange eau/DMC (80/20 v/v), la perte de masse n'est pas significativement différente des extraits secs totaux équivalents, avec des valeurs-p de 0,4 pour l'extraction de 30 minutes et de 0,2 pour celles de 4 heures. Les pertes de masse du sorgho n'ont donc pas été présentées sur la Figure 3.14.

En 30 minutes, le pourcentage d'extraits totaux est de 14,7 % et double après 4 h d'extraction pour atteindre 29,9 % (valeur-p de 0,002). Il faudrait donc 4 h d'extraction en Soxhlet avec le mélange eau/DMC (80/20 v/v) pour se rapprocher du rendement d'extraction obtenu avec la méthode ASTM D1105-96 (« standard » ou « écourtée »). De plus, bien qu'une légère diminution des rendements soit observée pour la phase DMC, entre 30 minutes et 4 h d'extraction, passant de 0,41 % à 0,33 %, celle-ci n'est pas significative (valeur-p > 0,05). Cependant, elle pourrait s'expliquer par le fait que la proportion de DMC solubilisé dans l'eau chaude est plus grande qu'à température pièce. En 4 heures d'extraction, une proportion plus

grande de DMC peut donc se solubiliser dans l'eau par rapport à une extraction de 30 minutes. Le volume de DMC récupéré est donc moindre, 10 mL au lieu de 17 mL environ pour 30 minutes d'extraction, ce qui peut influencer les rendements d'extraction obtenus puisqu'une partie des métabolites solubles dans le DMC se retrouveront dans la phase aqueuse. Quant à la phase aqueuse, la différence de rendement, passant de 14,72 % à 29,91 %, est très significative, la valeur-p obtenue étant inférieure à 0,001.

En comparant la méthode ASTM « écourtée » à l'extraction au mélange eau/DMC en 30 minutes, la différence de rendement dans les solvants organiques est très significative, soit une valeur-p inférieure à 0,001, pour des rendements respectifs de 17,91 % et de 0,42 %. La différence pour les rendements aqueux est, quant à elle, légèrement significative (valeur-p < 0,05) pour des rendements respectifs de 14,31 % et de 16,80 %.

La comparaison de la méthode ASTM « standard » à l'extraction au mélange eau/DMC en 4 heures amène à la même conclusion quant à la différence entre les extraits organiques, avec des rendements de 20,36 % avec l'ASTM et de 0,35 % avec le mélange eau/DMC. Pour les extraits aqueux, la significativité de la différence de rendements augmente avec une valeur-p < 0,001, due au fait que les rendements sont respectivement de 11,26 % et de 29,91% pour l'ASTM et le mélange eau/DMC.

Ainsi, la méthode ASTM « écourtée » (1,5 h) est à favoriser par rapport à l'extraction au mélange eau/DMC en 30 minutes avec des rendements en extraits secs 2,4 fois supérieurs. Cependant, la différence observée peut être due à la quantité de solvant en contact avec la biomasse, qui est de 3,7 L pour la méthode ASTM et seulement 0,2 L pour le mélange eau/DMC, soit une augmentation de 18,5 fois. Quant à la méthode ASTM « standard » (11 h), celle-ci ne permet d'obtenir qu'1,1 fois plus d'extraits secs que le mélange eau/DMC en 4 h, alors que la biomasse est en contact avec 2,8 fois plus de solvants, soit 6,4 L contre 2,3 L pour le mélange eau/DMC.

Les résultats obtenus par Nait Sidi Ahmed (2012) avaient démontrés que des extractions successives au DMC puis à l'eau, en Soxhlet, étaient capables d'extraire 0,5 % plus de molécules que la méthode ASTM D1107-56 (« Standard test method for ethanol-toluene solubility of wood »), soit une extraction au mélange éthanol/toluène suivie d'une extraction à l'eau. La méthode ASTM utilisée dans ce projet compte une extraction supplémentaire par

rapport à la méthode utilisée par Nait Sidi Ahmed, soit l'extraction à l'éthanol seul. La biomasse utilisée était également différente puisqu'elle portait sur du saule.

La biomasse, les solvants, le temps d'extraction et la technique utilisée, soit l'utilisation de mélange de solvants ou la succession de ceux-ci, sont donc à prendre en considération par rapport à la nature des molécules extraites. Si l'on tient compte de la polarité du toluène (0,43), de l'éthanol (1,74) et du DMC (0,91), la nature des molécules extraites dans chaque phase est différente. La proportion de molécules de polarité différente est donc un facteur important dans le choix du solvant. L'étude réalisée par Banat *et coll.*, en 2013, vient valider les observations faites. En changeant le solvant organique utilisé pour extraire l'huile d'olive, ils ont pu observer de grande variation dans les rendements obtenus, allant de 3 % à 10,6 % d'extraction en fonction du solvant. De plus, l'augmentation du temps d'extraction peut soit augmenter les rendements obtenus [Banat *et al.*, 2013], soit, au contraire, les diminuer [Ramluckan *et al.*, 2014], en fonction de la nature des molécules extraites.

Même si le mélange eau/DMC, en 30 minutes, n'est pas aussi efficace pour l'extraction des métabolites du sorgho que la méthode ASTM D1105-96 écourtée, l'écart se réduit pour une extraction de 4 h, comparée à la méthode ASTM « standard », si la somme des extraits secs est considérée. En comparaison à la méthode ASTM et à l'utilisation de toluène, le mélange eau/DMC présente donc un potentiel non négligeable en industrie grâce à la non-toxicité du DMC. D'un point de vue industriel, travailler avec des particules fines nécessite des étapes de broyages et de tamisages, coûteuses en temps, qu'il serait préférable d'éviter. L'influence de la taille des particules de sorgho sur l'efficacité d'extraction du mélange eau/DMC (80/20 v/v) en Soxhlet a donc été testée.

II. 1. d Influence de la taille des particules du sorgho sucré sur l'efficacité extractive du mélange eau/DMC (80/20 v/v)

Des extractions sur du sorgho sucré brut (particules telles que reçues par le CÉROM, inférieures à 5 cm de long) ont été effectuées durant 30 minutes ou 4 h après le premier siphonage.

Les particules brutes sont moins homogènes que les particules de 250-425 µm. Pour ces premières, il y a des tiges, des feuilles, des graines, des grosses particules (< 5 cm le long), des particules plus fines (de l'ordre de la centaine de micromètres), etc. Dans l'échantillon de biomasse brute, la quantité de chaque portion de plante n'est pas égale, ce qui peut influencer

les quantités d'extraits obtenus. De plus, les particules étant plus grandes, l'accessibilité des extractibles est moindre pour les solvants.

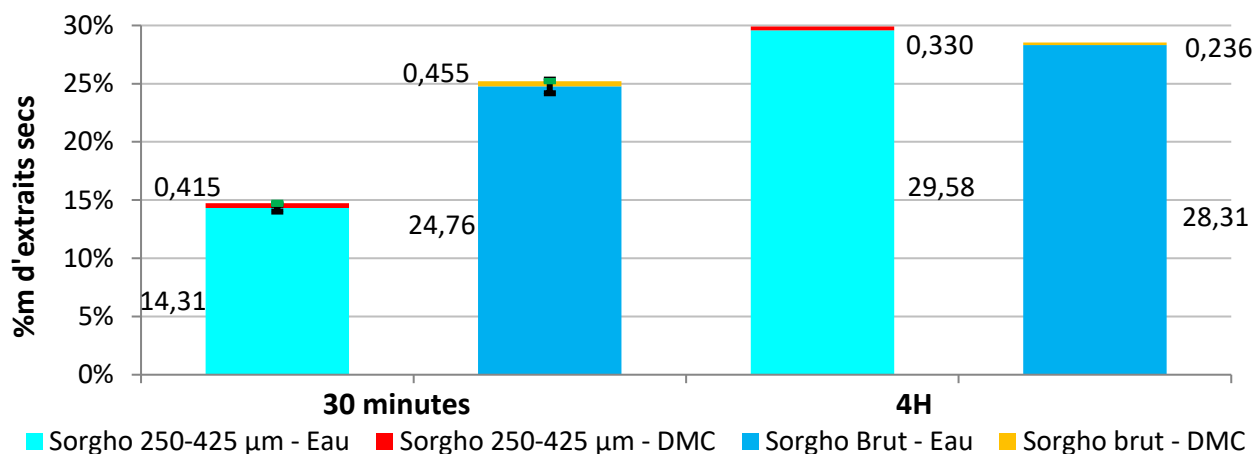


Figure 3.15 : Comparaison de l'efficacité (%) de l'extraction en Soxhlet du mélange eau/DMC (80/20 v/v) en fonction de la taille des particules du sorgho sucré, en 30 minutes et en 4h d'extraction

Dans un premier temps, la Figure 3.15 montre une légère diminution en ce qui concerne les rendements en phase DMC entre 30 minutes et 4 h d'extraction pour les particules brutes, passant de 0,455 % à 0,236 % respectivement. Cependant, comme pour les particules de 250-425 µm, cette diminution n'est pas significative (valeur-p > 0,05). Concernant la phase aqueuse, l'augmentation de rendement avec le temps, passant de 24,76 % à 28,31 %, est significative (valeur-p < 0,001).

De plus, à l'inverse de ce qu'il aurait été possible de penser, l'extraction en 30 minutes sur le sorgho brut est plus efficace que sur le sorgho de 250-425 µm : 25,2 % au lieu de 14,7 %, soit une valeur-p < 0,001. Cependant, après 4h d'extraction, la tendance s'inverse avec 28,4 % d'extraits secs totaux pour le sorgho brut et 29,9 % pour les particules de 250-425 µm, une différence non-significative (valeur-p > 0,1). À noter que la différence de rendement d'extraction, entre 30 minutes et 4 h d'extraction, observable pour les particules fines (rendement doublé) est beaucoup moins visible pour les particules brutes (augmentation de 3,2%). Cela peut s'expliquer par la grande hétérogénéité de la taille des particules de sorgho brut, pouvant présenter une grande partie de particules fines desquelles l'extraction des métabolites est facilitée. De plus, une étude de Bahcegul *et coll.* (2012) a montré qu'en fonction du solvant utilisé, la taille des particules pouvaient faire varier les rendements obtenus. L'étude portait sur les rendements en glucose par hydrolyse enzymatique suivant un prétraitement par

liquide ionique. Ils ont pu observer une diminution des rendements en glucose pour la plus petite taille de particules (<0,15 mm) par rapport aux particules plus grosses (maximum 2 mm) pour l'un des liquide ionique utilisé alors que pour l'autre, l'effet inverse était observé.

Au vu des résultats, d'un point de vue industriel et si les extraits secs totaux sont considérés, l'utilisation de sorgho brut, avec un temps d'extraction de 4 heures, serait à privilégier. L'utilisation du sorgho brut à la place du sorgho broyé à 250-425 µm diminuerait les coûts de prétraitement de la biomasse, liés au broyage et au tamisage préalables aux extractions.

II. 1. e Conclusion

D'après les expériences réalisées ici, il est possible de voir plusieurs tendances :

- Méthode ASTM : 30 minutes par étapes sont suffisantes pour atteindre un maximum d'extraits secs, soit 35 % d'extraction environ. Mais si les extraits apolaires et faiblement à moyennement polaires sont préférés aux extraits polaires, l'utilisation de la méthode « standard » est à privilégier.
- Au Soxhlet : en termes d'extraits secs, en 30 minutes il vaut mieux utiliser l'eau alors qu'en 4 h, le mélange eau/DMC (80/20 v/v) est plus efficace.
- Le mélange eau/DMC (80/20 v/v) ne permet pas, en Soxhlet, de venir égaler les rendements obtenus à la méthode ASTM D1105-96.
- Les particules brutes sont hétérogènes par rapport aux particules de 250-425 µm. L'hétérogénéité des particules peut influencer la quantité et la nature des molécules extraites.
- Sorgho brut : le mélange eau/DMC (80/20 v/v) permet d'extraire plus de composés que pour les particules fines en 30 minutes (25,2 % au lieu de 14,7%). Cependant, en 4 h, la quantité des extraits secs totaux n'est pas significativement différente de celle obtenue avec les particules fines. L'utilisation de sorgho brut, extrait pendant 4 h, est donc à prendre en considération compte tenu de la réduction des coûts liés aux prétraitements de la biomasse.

Les résultats des extractions préliminaires, en Soxhlet, étant établis, il était alors possible d'effectuer les extractions en réacteurs. Dans un premier temps, le réacteur « batch » avec recirculation du solvant a été testé, pour déterminer l'efficacité de la recirculation du solvant à travers le lit de sorgho, à température pièce.

II. 2. Extractions en réacteur « batch » avec recirculation du liquide extracteur

Pour ces tests, la biomasse est mise en contact avec l'émulsion ultrasonique eau/DMC (80/20 v/v) préformée. Ainsi, le mélange eau/DMC (80/20 v/v) est soumis aux ultrasons pendant 5 minutes (sonde 500 W, sans pulsations, amplitude de 95 %) pour créer une émulsion avant d'être introduite dans le système. Cette émulsion recircule, à un débit fixé, dans le système et traverse un lit fixe de sorgho (maintenu dans le corps du réacteur). Ici, 10 g de sorgho sont mis en contact avec 1,5 L de solvant.

II. 2. a Potentiel d'extraction de l'eau et du DMC

Dans un premier temps, il est intéressant de déterminer le potentiel d'extraction de l'eau et du DMC pris séparément, avec le réacteur « batch » avec recirculation.

Des tests ont donc été réalisés avec du sorgho de 250-425 μm et du sorgho brut. Le débit de recirculation était fixé à 370 mL.min⁻¹. Le temps de recirculation était de 5, 10, 20 ou 30 minutes en fonction du test. Les tests étant faits à température ambiante, les températures d'extraction étaient ici de 21 à 23 °C.

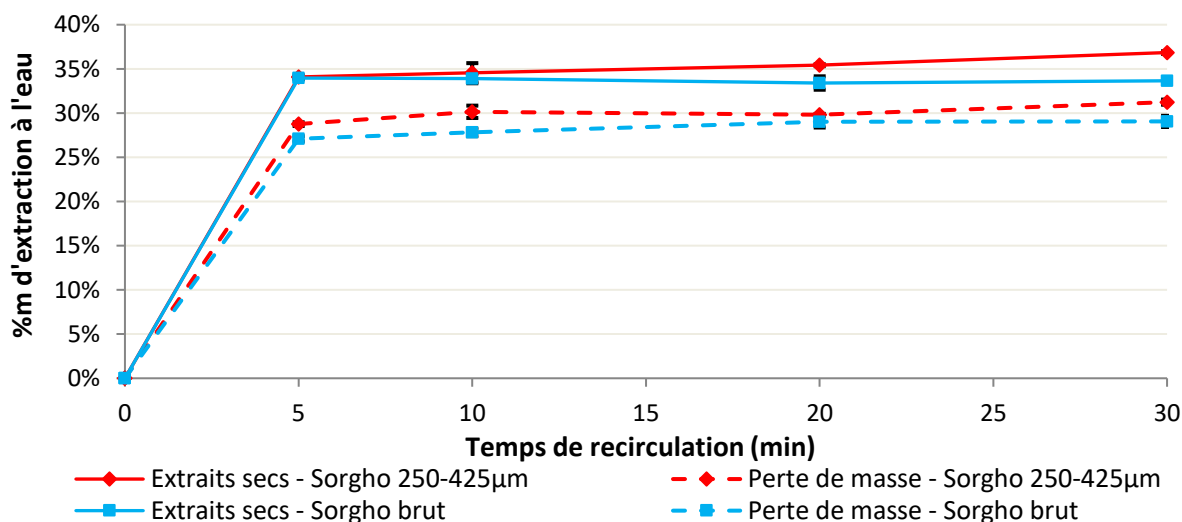


Figure 3.16 : Rendements d'extraction (%) à l'eau, débit de 370 mL/min, sorgho sucré (250-425 μm et brut), température de 21-23 °C

Concernant le sorgho sucré de 250-425 μm , la Figure 3.16 met en évidence la présence d'environ 35 % d'extraits aqueux pour une perte de masse du sorgho de 30 % environ. Les rendements en extraits aqueux sont supérieurs à ceux obtenus en Soxhlet avec 27,07 % en 4 h (Figure 3.13) alors que ceux liés à la perte de masse sont ici inférieurs, avec 33,73 % de perte

de masse en 4 h en Soxhlet. La différence entre les extraits aqueux en Soxhlet et en réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion peut s'expliquer par la dégradation par la chaleur ou l'évaporation des extraits lors des extractions en Soxhlet qui sont faites à haute température (~100 °C). De plus, la différence observée entre la perte de masse et les extraits secs obtenus peut être due à de l'humidité résiduelle au sein des échantillons lors de l'étape de séchage au four à vide (60 °C, -14 psig, 2 jours) suivant la lyophilisation. L'impossibilité d'enlever toute l'eau des échantillons aurait pour résultat l'augmentation des rendements en extraits secs. De plus, l'augmentation du temps d'extraction n'a pas d'effet significatif sur la masse d'extraits secs aqueux obtenue, avec des valeurs-p supérieures à 0,05. Un temps de 5 minutes est donc suffisant pour extraire la totalité des molécules solubles dans l'eau, avec 34,10 % d'extraits. La même absence de significativité entre les pertes de masse avec l'augmentation du temps est observée, excepté pour la comparaison de 5 minutes et 30 minutes d'extraction où la valeur-p est inférieure à 0,05. Cependant, l'intérêt se porte principalement sur les extraits secs, le choix d'une extraction à l'eau en 5 minutes à un débit de 370 mL.min⁻¹ est donc à privilégier.

Les mêmes observations sont faites avec le sorgho brut, soit l'absence d'influence significative (valeurs-p > 0,05) du temps sur les rendements d'extraction ou la perte de masse du sorgho. Une extraction de 5 minutes permet ainsi d'obtenir 33,9 % d'extraits secs, pour 27,09 % de perte de masse.

Ainsi, pour un temps d'extraction de 5 minutes, il est intéressant de noter qu'aucune différence significative (valeur-p > 0,005) n'est observée quant aux rendements en extraits secs obtenus avec le sorgho brut et le sorgho de 250-425 µm. Dans le cas d'une utilisation industrielle, il serait donc préférable d'utiliser ici le sorgho brut.

Concernant les extractions effectuées avec le DMC (Figure 3.17), le sorgho de 250-425 µm permet d'obtenir plus d'extraits secs que le sorgho brut (valeurs-p < 0,001). Pour le sorgho de 250-425 µm, jusqu'à un temps de 20 minutes, les rendements sont similaires, avec environ 3 % d'extraits secs. L'augmentation du temps d'extraction au DMC n'a d'influence qu'à partir de 30 minutes (valeur-p < 0,001), pour atteindre 4,2 % de rendement. En comparant ces résultats aux rendements obtenus en Soxhlet au DMC (Figure 3.13), le réacteur « batch » avec recirculation du DMC à travers le lit de biomasse permet des rendements supérieurs. En effet, 30 minutes en Soxhlet ne permettent d'extraire que 1,62 % de molécules et 3,51% après 4 heures. Le fait de faire l'extraction à température ambiante permet d'obtenir des rendements

supérieurs à la méthode en Soxhlet, ce qui peut s'expliquer par la non-dégradation des composés thermolabiles et l'absence de perte des composés volatiles. Les rendements obtenus avec le sorgho brut montrent, quant à eux, une augmentation progressive en fonction du temps d'extraction. Jusqu'à 10 minutes d'extraction, les rendements sont inférieurs à 2 % d'extraits alors qu'à partir de 20 minutes, ceux-ci passent à 2,2 % pour atteindre 2,9 % après 30 minutes d'extraction.

À noter que la perte de masse du sorgho reste constante quelque soit le temps d'extraction, pour les deux tailles de particules, soit environ 4 % pour le sorgho de 250-425 μm et 2,4 % pour le sorgho brut. De plus, le fait que la perte de masse soit supérieure aux extraits secs peut s'expliquer par la perte de biomasse ou de phase liquide lors des manipulations. Il est également possible qu'une réaction ait lieu entre le DMC et la matrice lignocellulosique (voir la section II.2.e Analyse FTIR du sorgho).

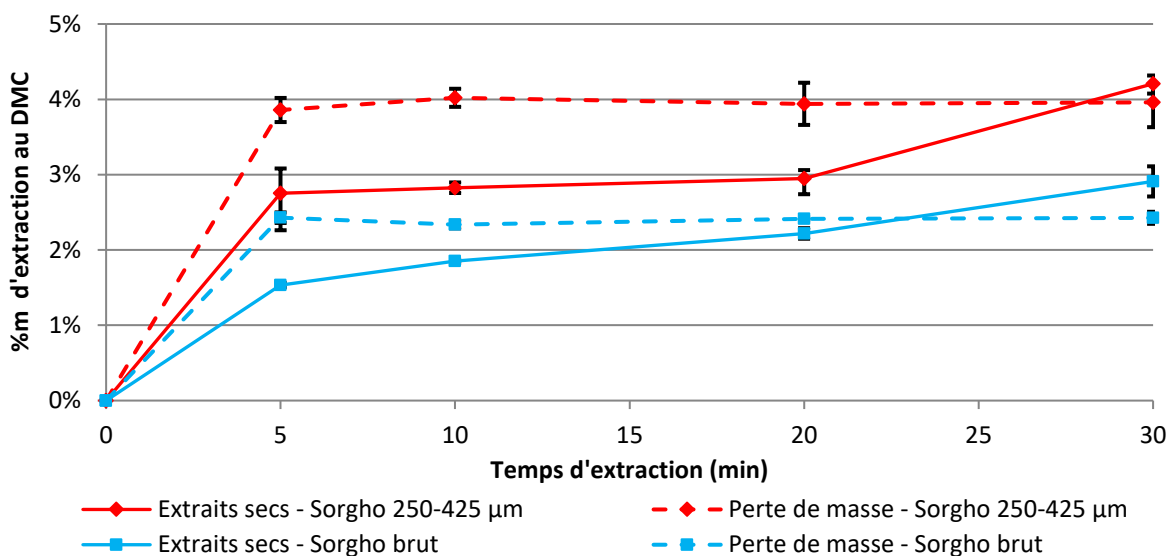


Figure 3. 17 : Rendements d'extraction (%) au DMC, débit de 370 mL/min, sorgho sucré (250-425 μm et brut), température de 18-21 °C

Les extractions en réacteur « batch » avec recirculation du solvant donnent des rendements supérieurs à celles effectuées en Soxhlet, avec les mêmes solvants. Le fait de travailler à température ambiante permettrait de limiter la perte ou la dégradation des composés volatiles ou thermolabiles. En réacteur « batch » avec recirculation du solvant, la biomasse étant continuellement en présence de solvant, à l'inverse de la méthode de siphonage en Soxhlet. Cela permettrait également d'obtenir des rendements plus élevés en des temps plus courts que la méthode en Soxhlet. Une étude de Murugan et Parimelazhagan (2013) a ainsi démontré qu'en

fonction du solvant utilisé, la macération à température pièce était aussi efficace, voire plus, que des extractions en Soxhlet. De plus, l'activité antioxydante ou anti-inflammatoire des molécules étudiées était dépendante de la méthode, et donc de la température des solvants utilisés.

D'un point de vue industriel, il est préférable de garder des temps de traitement courts et des températures proches de la température pièce pour limiter les coûts d'opération. Des extractions de 5 minutes, en réacteur « batch » avec recirculation du solvant, permettent d'extraire environ 34 % de composés polaires et entre 1,5 % et 2,8 % de composés faiblement polaires selon la taille des particules. Si l'extraction est effectuée pendant 30 minutes, les rendements en métabolites hydrophiles n'augmentent pas significativement (valeurs-p > 0,05) et les métabolites solubles dans le DMC passent à 2,9 % pour le sorgho brut et 4,2 % pour le sorgho de 250-425 μm , soit une augmentation de 1,4 % pour chacune des tailles de particules. L'augmentation d'extraits secs est faible pour une multiplication du temps par six, ce qui n'est pas forcément intéressant pour l'industrie. Il serait donc préférable de garder un temps d'extraction de 5 minutes, permettant la transposition en réacteur continu, avec un temps de résidence de 5 minutes, qui serait préférable à un réacteur « batch » pour l'industrie.

L'efficacité de l'eau et du DMC en réacteur « batch » avec recirculation du solvant étant déterminée, le mélange eau/DMC peut être testé. L'émulsion étant préformée avant son introduction dans le système, la nécessité de la présence d'ultrasons pendant la recirculation, pour maintenir l'émulsion au cours de l'extraction, devait être déterminée.

II. 2. b Influence des ultrasons pendant la recirculation de l'émulsion eau/DMC (80/20 v/v)

Afin de limiter la consommation énergétique du procédé, il fallait déterminer si la présence des ultrasons lors de la recirculation de l'émulsion était nécessaire pour améliorer l'extraction des composés extractibles du sorgho sucré. L'émulsion était préformée dans un bécher avant d'être introduit dans le système, les ultrasons étaient utilisés pour garantir le maintien de l'émulsion au cours de l'extraction. Le lit de biomasse était formé de 10 g de particules de sorgho sucré de 250-425 μm .

Deux séries de tests d'extractions ont été effectuées (Figure 3.18) :

- Avec utilisation des ultrasons lors de la recirculation : sonde 500 W, avec pulsations 5/1 (soit 5 secondes de fonctionnement des ultrasons suivies d'une seconde de pause), 40 % d'amplitude.
- Sans ultrasons.

La durée de chaque extraction était de 30 minutes. Les débits de recirculations sont de 370 mL.min⁻¹, 499 mL.min⁻¹, 824 mL.min⁻¹, 970 mL.min⁻¹.

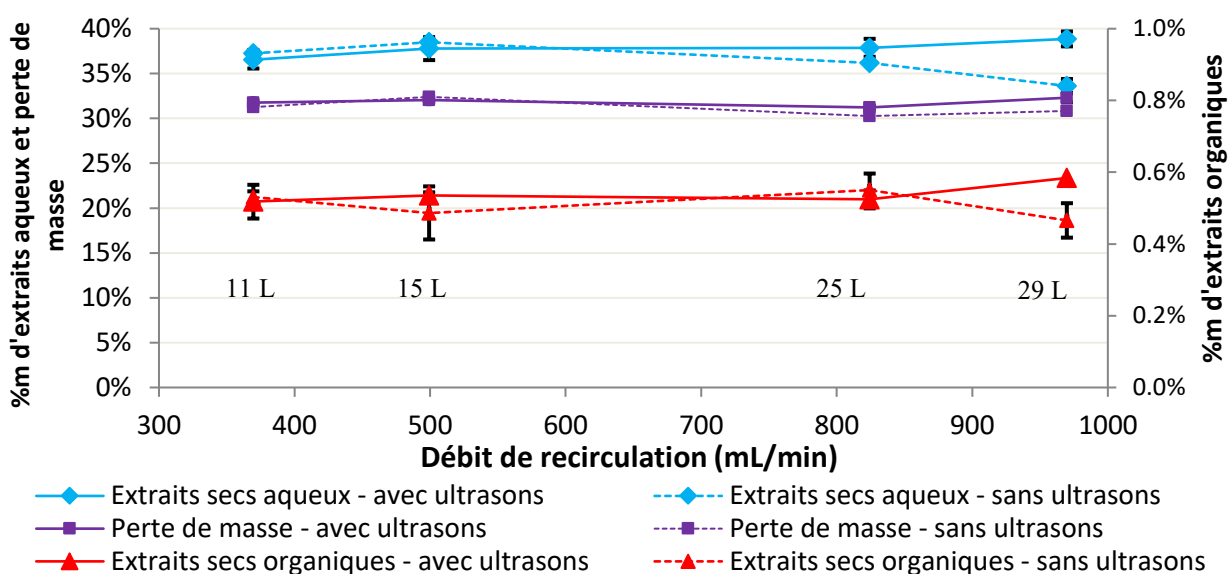


Figure 3.18 : Efficacité de l'extraction (%) en réacteur « batch » avec recirculation du mélange eau/DMC (80/20 v/v), en 30 minutes, avec ou sans ultrasons pendant la recirculation (sorgho sucré de 250-425 µm), température de 27-29 °C

D'après les résultats obtenus (Figure 3.18), la présence des ultrasons lors de la recirculation n'a pas d'influence significative sur les pourcentages d'extraction, que ce soit en termes d'extraits secs ou par perte de masse (valeurs-p > 0,05). En effet, qu'il y ait utilisation ou non d'ultrasons lors de la recirculation, le pourcentage d'extraction par perte de masse du sorgho est d'environ 32 %. Pour les extraits récupérés dans le DMC, le pourcentage d'extraction est d'environ 0,5 %. En comparaison à l'efficacité de mélange en Soxhlet (0,45 %), les rendements ne sont pas significativement plus élevés. Cependant, les rendements sont beaucoup plus faibles qu'avec le DMC seul en réacteur « batch » avec recirculation. Cela pourrait s'expliquer par la plus faible quantité de DMC en contact avec la biomasse et il est d'environ 37 % pour les extraits aqueux. Pour le dernier traitement (970 mL.min⁻¹), sans ultrasons lors de la recirculation du solvant, on remarque une diminution des extraits secs. Cela peut s'expliquer par le changement de lot de

broyage de sorgho utilisé pour ces tests. Il est possible que le sorgho utilisé ici contienne moins d'extractibles que celui utilisé pour les autres tests (issus d'autres lots de broyage). Vu le reste des résultats, la diminution du rendement d'extraction visible n'est donc pas jugée représentative d'une diminution de l'efficacité d'extraction de la méthode utilisée. À noter que les tests ont été faits à une température pièce de 27-29 °C, ce qui peut expliquer l'augmentation de rendement d'extraction pour la phase aqueuse, de 2 % environ par rapport à ce qui a été obtenu dans la partie II. 2. a, soit 37 % au lieu de 35 %. De plus, une différence d'environ 5 % est visible entre la perte de masse et la somme des extraits secs correspondant. Cela peut s'expliquer par la présence d'eau résiduelle après la lyophilisation et le séchage sous vide des échantillons de phase aqueuse, ou par une réaction entre le mélange eau/DMC et la matrice lignocellulosique (voir la section II.2.e Analyse FTIR du sorgho).

Au vu de l'augmentation de la consommation énergétique liée aux ultrasons, qui passe de 38 kJ environ, lorsque les ultrasons ne sont utilisés que pour former l'émulsion, à 95 kJ, lorsque ceux-ci servent à créer l'émulsion et à la maintenir lors de la recirculation, il est donc préférable de n'utiliser les ultrasons que pour la formation de l'émulsion eau/DMC. C'est ce qui sera donc fait dans la suite de la partie II.2.

De plus, la Figure 3.18 montre que l'augmentation du débit de recirculation n'a pas d'influence sur les pourcentages d'extraction. Cela signifie qu'en 30 minutes, à température ambiante, au plus bas débit, soit 370 mL.min⁻¹, qui représente un volume total d'émulsion recirculée de 11 L, la totalité des composés extractibles est solubilisée. Une étude sur le temps d'extraction pour un débit de 370 mL.min⁻¹ a donc été effectuée pour déterminer le temps minimal d'extraction nécessaire pour extraire la totalité des composés extractibles. Les résultats sont présentés dans la partie qui suit (II.2.c).

II. 2. c Influence du temps de recirculation de l'émulsion

Pour cette étude, le débit fixé est de 370 mL.min⁻¹, les ultrasons sont utilisés pour créer l'émulsion eau/DMC. Les temps d'extractions étudiés sont de 5, 10, 20 et 30 minutes.

Dans un premier temps, il est à noter que pour ces tests, le sorgho utilisé (250-425 µm) provenait de trois lots de broyages différents (un lot pour l'extraction en 5 minutes, un deuxième lot pour celles en 10 et 20 minutes, et un troisième lot pour le test en 30 minutes). Cela peut expliquer les différences visibles entre les tests (Figure 3.19). Cependant, sur un même lot, les résultats

pour les extraits aqueux sont similaires (valeur-p >0,05). Il en est de même pour la perte de masse. Il est possible de considérer qu'en moyenne, la recirculation à $370 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de sorgho broyé à $250\text{-}425 \mu\text{m}$ permet d'obtenir un rendement d'extraction par perte de masse de 30 %. En termes d'extraits aqueux, le rendement moyen est de 35 % et est de 0,3 à 0,5 % environ pour les extraits dans le DMC.

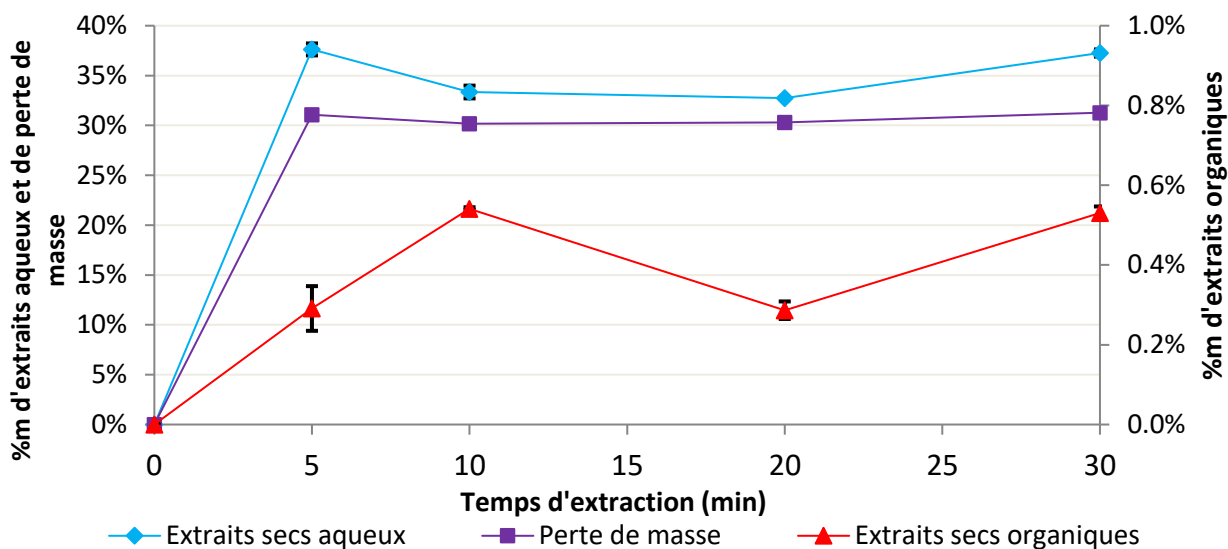


Figure 3.19 : Efficacité (%) de l'extraction du mélange eau/DMC (80/20 v/v) en fonction du temps de recirculation (débit de $370 \text{ mL}/\text{min}$), sur du sorgho sucré $250\text{-}425 \mu\text{m}$, température de $26\text{-}30 \text{ }^\circ\text{C}$

La Figure 3.19 permet donc de constater qu'une extraction avec 5 minutes de recirculation de l'émulsion eau/DMC ($370 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) est suffisante pour extraire la totalité des molécules extractibles, à température ambiante, pour des particules de sorgho de $250\text{-}425 \mu\text{m}$. Les paramètres d'extraction pour le sorgho de $250\text{-}425 \mu\text{m}$ étant déterminés, il était nécessaire de déterminer si les mêmes observations pouvaient être faites sur du sorgho brut.

II. 2. d Influence de la taille des particules de sorgho utilisées

Dans l'objectif d'utiliser ce type de réacteur à des fins industrielles, l'efficacité de celui-ci a été étudiée sur des particules grossières (sorgho brut). L'utilisation du sorgho brut permet d'éviter les étapes de prétraitements (broyage et tamisage) et donc de réduire les coûts d'opérations. Les paramètres de la partie II.2.c sont repris, seule la taille des particules diffère.

De la même manière que pour les particules de $250\text{-}425 \mu\text{m}$, l'augmentation du temps de recirculation de l'émulsion ne permet pas d'augmenter les rendements d'extraction sur le sorgho brut (Figure 3.20). Les pourcentages d'extractions par perte de masse sont d'environ 25 %, sans

augmentation significative entre 5 et 30 minutes, soit une valeur-p supérieure à 0,05 (Figure 3.29). Il y a donc une diminution de 5 % par rapport aux rendements obtenus avec les particules fines (Figure 3.19). De la même manière, aucune différence significative n'est observée quant à l'évolution des rendements en extraits aqueux au cours du temps. Les rendements en extraits aqueux sont ainsi de 30%, soit une diminution de 5 % lorsque la taille des particules augmente. Quant aux extraits au DMC, leurs rendements se situent entre à 0,2 et 0,4 %, soit une diminution de 0,1% par rapport aux particules fines (Figure 3.19).

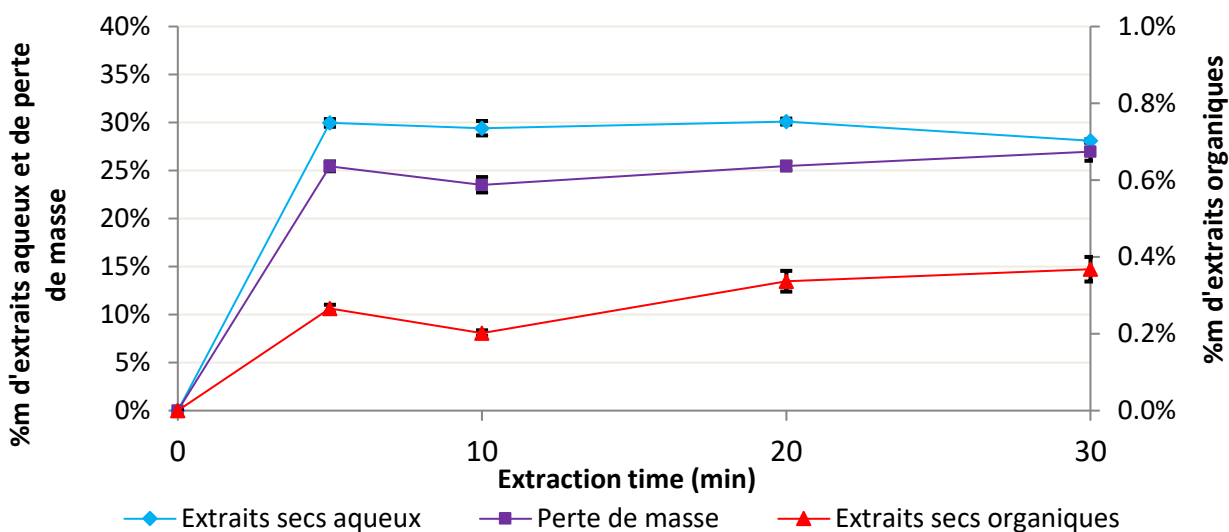


Figure 3.20 : Efficacité (%) de l'extraction du mélange eau/DMC (80/20 v/v) en fonction du temps de recirculation (débit de 370 mL.min⁻¹), sorgho brut, température de 26-30 °C

Ici encore, 5 minutes d'extraction avec un débit de recirculation de 370 mL.min⁻¹ semblent suffisantes pour solubiliser la totalité des composés extractibles du sorgho brut, à température ambiante. Pour l'industrie, la diminution des rendements aqueux de 5 % en travaillant avec des particules grossières au lieu de fines est à considérer en fonction des coûts engendrés par les étapes de broyages et de tamisages, ainsi que le temps de ces étapes.

II. 2. e Analyses FTIR du sorgho

Dans les différentes figures présentées, la perte de masse est généralement plus faible que la masse d'extraits secs obtenus. Ce phénomène pourrait s'expliquer par la présence d'eau résiduelle dans les extraits aqueux après les étapes de lyophilisation et de séchage sous vide. Une deuxième hypothèse serait une réaction entre la matrice lignocellulosique et le DMC. Le spectre FTIR du sorgho avant et après extraction au mélange eau/DMC montre une augmentation des pics à 1739 cm⁻¹ correspondant à l'élongation du groupement carbonyle et à

1515 cm^{-1} correspondant aux groupements carboxylate (Figure 3.21). Cela viendrait appuyer cette hypothèse de réaction entre la structure lignocellulosique et le DMC. De plus, Labafzadeh *et coll.* (2015) ont montré que la cellulose était capable de réagir avec le DMC dans des liquides ioniques. Une forme de trans-estérification avec le DMC pourrait donc exister. Pour valider l'hypothèse, une analyse chromatographique pourrait être effectuée ou un traitement de la cellulose microcristalline avec du DMC pourraient être réalisé dans les mêmes conditions pour voir si la masse de cellulose finale est supérieure à la masse originale. La lignine et les hémicelluloses pourraient également réagir avec le DMC, augmentant ainsi la masse résiduelle obtenue après extraction de la biomasse.

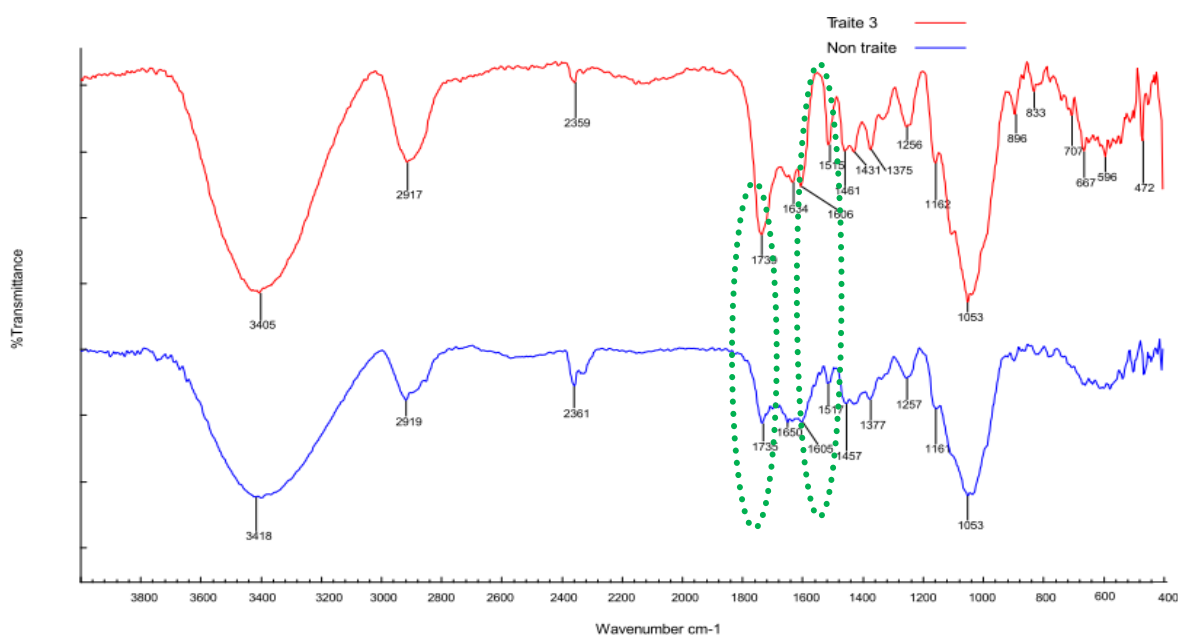


Figure 3.21 : Spectres FTIR du sorgho sucré avant et après extraction au mélange eau/DMC (80/20 v/v)

II. 2. f Comparaison des extractions par macération et en Soxhlet

Le réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion eau/DMC (80/20 v/v) permet de travailler à température ambiante limitant ainsi la dégradation ou l'évaporation des molécules thermosensibles.

Avec des particules de 250-425 μm , cette méthode permet d'obtenir des rendements d'extraction d'environ 35 % en extraits secs, en 5 minutes d'extraction, avec un débit de 370 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Dans le cas des particules de sorgho brut, dans les mêmes conditions, ce pourcentage passe à 30 % d'extraction environ.

Les coûts de prétraitements de la biomasse sont à prendre en considération pour déterminer si la diminution des rendements de 5 % justifie ou non l'utilisation de sorgho brut à la place du sorgho de 250-425 μm .

En comparant l'efficacité du mélange eau/DMC en Soxhlet avec celle en réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion, les observations suivantes peuvent être faites :

- Extraits aqueux :
 - 250-425 μm : **Recirculation** > Soxhlet, niveau de significativité : ***
 - Brut : **Recirculation** > Soxhlet 30 min, niveau de significativité : **
 - Recirculation** = Soxhlet 4h
- Extraits organiques :
 - 250-425 μm : **Recirculation** = Soxhlet
 - Brut : Soxhlet 30 min > Soxhlet 4 h, niveau de significativité : *
 - Soxhlet 30 min > Recirculation 5 min, niveau de significativité : *

Enfin, la recirculation du mélange eau/DMC à travers le lit de biomasse est plus efficace que l'ASTM en termes d'extraits aqueux (niveau de significativité : ***) alors que l'inverse est observé pour les extraits organiques. L'étude de Bandar *et coll.* (2013) vient corroborer ces observations puisqu'ils ont démontré que dans la majorité des cas, l'extraction en Soxhlet était plus efficace que la macération pour des extractions avec des solvants organiques.

Les conditions d'extraction par macération, en réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion à travers le lit de biomasse, ayant été déterminées, l'influence des ultrasons en présence de la biomasse ainsi que l'ajout de pression lors de l'extraction peuvent être étudiées.

II. 3. Extractions en réacteur « batch - piston »

Les extractions assistées par ultrasons sont de plus en plus étudiées pour le traitement de la biomasse. Dans cette partie, différents paramètres pouvant influencer l'efficacité de cette méthode ont été étudiés. Pour cela, un plan d'expérience a été réalisé afin de permettre d'obtenir un maximum d'information en un minimum de tests.

II. 3. a Résultats

Les résultats expérimentaux (Tableau 3.9) montrent, en fonction de la taille des particules, des rendements d'extraction dans la phase aqueuse entre 30,3 % et 35,2 %. Les extraits dans le DMC se situent entre 0,09 % et 0,3 %. La perte de masse varie quant à elle entre 23,8 % et 30,6 %.

Tableau 3.9 : Résultats des extractions en « batch – piston » sur le sorgho sucré, avec le mélange eau/DMC (80/20 v/v)

# Test	Extraction dans le DMC (%)	Extraction dans l'eau (%)	Perte de masse (%)
13	0,29	33,70	26,65
14	0,16	33,19	28,39
1	0,11	31,69	25,66
12*	0,30	31,64	26,96
17*	0,26	33,66	29,27
18	0,20	35,18	30,01
20	0,19	35,20	29,30
5	0,14	30,84	25,75
16*	0,27	33,29	29,51
9	0,15	33,31	30,58
2	0,14	34,05	28,13
15	0,12	31,60	24,72
10	0,14	30,34	24,86
7	0,10	31,83	25,45
3	0,20	32,99	27,96
19*	0,15	32,73	27,11
21	0,17	33,10	27,49
22**	0,19	32,84	28,03
11	0,17	34,44	28,51
4	0,09	31,14	23,79
6*	0,24	33,15	27,71
8*	0,18	34,48	28,24

*Tests effectués en duplicata pour vérifier les résultats

**Test effectué en triplicata pour vérifier les résultats

Les tests au-dessus de la ligne sont effectués avec des particules de sorgho de 250-425 µm. Ceux en dessous sont fait avec du sorgho brut.

À noter que même si les rendements minimaux sont obtenus avec le sorgho brut alors que les rendements les plus élevés le sont avec le sorgho de 250-425 µm, il n'y a pas de différence significative entre les rendements obtenus avec le sorgho brut et le sorgho fins. Cela peut s'expliquer, comme mentionnait par Chemat (2014), par le phénomène de sonolyse qui faciliterait l'extraction des métabolites du sorgho brut, permettant d'atteindre les rendements obtenus avec le sorgho de 250-425 µm. De plus, une fois encore, la perte de masse du sorgho est toujours plus faible que la masse d'extraits obtenus, ce qui pourrait être le résultat de pertes de produits lors des manipulations ou d'une réaction entre le DMC et la matrice lignocellulosique (analyse FTIR en section II.2.e). À noter que des problèmes de variabilité dans les rendements obtenus sont visibles avec les conditions répliquées (tests # 17, 18, 20 pour le sorgho de 250-425 µm et tests # 19, 21, 22 pour le sorgho brut). Cela peut être expliqué par

l'utilisation d'une sonde à ultrasons au lieu d'un bain. En effet, Khoddami *et al.* (2013) ont expliqué que l'utilisation d'une sonde peut entraîner des problèmes de répétabilité et de reproductibilité des extractions.

À l'aide des résultats obtenus, et en utilisant des logiciels d'analyse statistique de données, les paramètres significatifs de l'extraction ont pu être identifiés et un modèle prédictif a été déterminé.

II. 3. b Validation du modèle prédictif et identification des paramètres significatifs

Le plan d'expérience utilisé étant de type composite centré, le modèle d'analyse utilisé était de type quadratique, de la forme $y = \beta_0 + \sum_{i=0}^k \beta_i x_i + \sum_{i,j=0}^k \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=0}^k \beta_{ii} x_i^2$. En utilisant Design Expert® (version 8) et l'outil ANOVA, ce modèle a permis d'identifier les paramètres significatifs pour les différentes réponses, soit le rendement dans la phase DMC, celui dans la phase aqueuse et la perte de masse du sorgho. Les coefficients de chaque facteur significatif ont été identifiés et regroupés dans le Tableau 3.10.

Pour ce qui est des rendements en phase aqueuse, aucun facteur n'est vraiment significatif et seul le couple pression*temps a une valeur-p inférieure à 0,1. Cela voudrait dire que le simple fait de mettre la biomasse en contact avec de l'eau permet d'extraire la majorité des extraits hydrophiles. L'ajout de pression, d'ultrasons et l'augmentation du temps de contact n'a pas d'effet significatif sur l'amélioration des rendements d'extraction en phase aqueuse. De plus, le coefficient de détermination du modèle pour la phase aqueuse, soit le R^2 prédictif, est négatif. En se basant sur l'interprétation fournie par l'outil ANOVA du logiciel Design Expert®, cela implique que le modèle n'est pas prédictif et que la moyenne globale des rendements obtenus permet une meilleure prédiction que le modèle lui-même.

À l'inverse, pour les rendements dans le DMC, ceux-ci sont influencés par le temps, la taille des particules, l'association de ces deux paramètres, l'amplitude des ultrasons associée au temps et l'amplitude au carré. Le bon équilibre entre ces paramètres permet donc en théorie d'obtenir les meilleurs rendements. Le R^2 prédictif du modèle est de 0,49, ce qui est faible. Le modèle est donc significatif mais faiblement prédictif. L'hétérogénéité de la biomasse, le faible nombre de réplicats et les rendements faibles obtenus dans la phase DMC, accentuant l'incertitude sont à

considérer. L'augmentation du nombre de réplicats ou un changement de solvant, permettant des rendements plus importants pourraient venir augmenter la prédictibilité du modèle.

De la même manière, la perte de masse est influencée par l'amplitude des ultrasons, le temps, l'amplitude des ultrasons associée à la pression d'opération, la pression associée au temps et par le temps associé à la taille des particules. Le R^2 de 0,61 permet de considérer ce modèle comme significatif et moyennement prédictif.

Tableau 3.10 : Coefficients des différents facteurs en fonction de la réponse étudiée

Coefficient	Phase DMC (Log ₁₀)	Phase aqueuse	Perte de masse (Racine carrée)
Ordonnée à l'origine	-1,24075	33,5592000	4,90801
Amplitude	0,020628	0,4527500	-2,62773E-004 ***
Pression	1,40693E-004	-0,0455833	-7,57709E-004
Temps	-0,023318 ***	0,2384170	0,038107
Taille	-0,20219 ***	-0,1834940	-0,14466 ***
Amplitude * Pression	n-s	0,1452900	3,49379E-005 ***
Amplitude * Temps	2,55783E-004 ***	0,24556700	n-s
Amplitude * Taille	n-s	0,1077500	n-s
Pression * Temps	n-s	-0,8394330 *	-8,52941E-005 ***
Pression * Taille	n-s	0,1260830	n-s
Temps * Taille	8,41702E-003 ***	0,5800830	5,44510E-003 ***
Amplitude ²	-1,71343E-003 ***	-0,1602770	n-s
Pression ²	n-s	0,1997230	n-s
Temps ²	n-s	-0,9427040	-8,11946E-004 ***
R ²	0,4907	-3.2786	0,6065
Écart-type	0,073	1,18	0,067

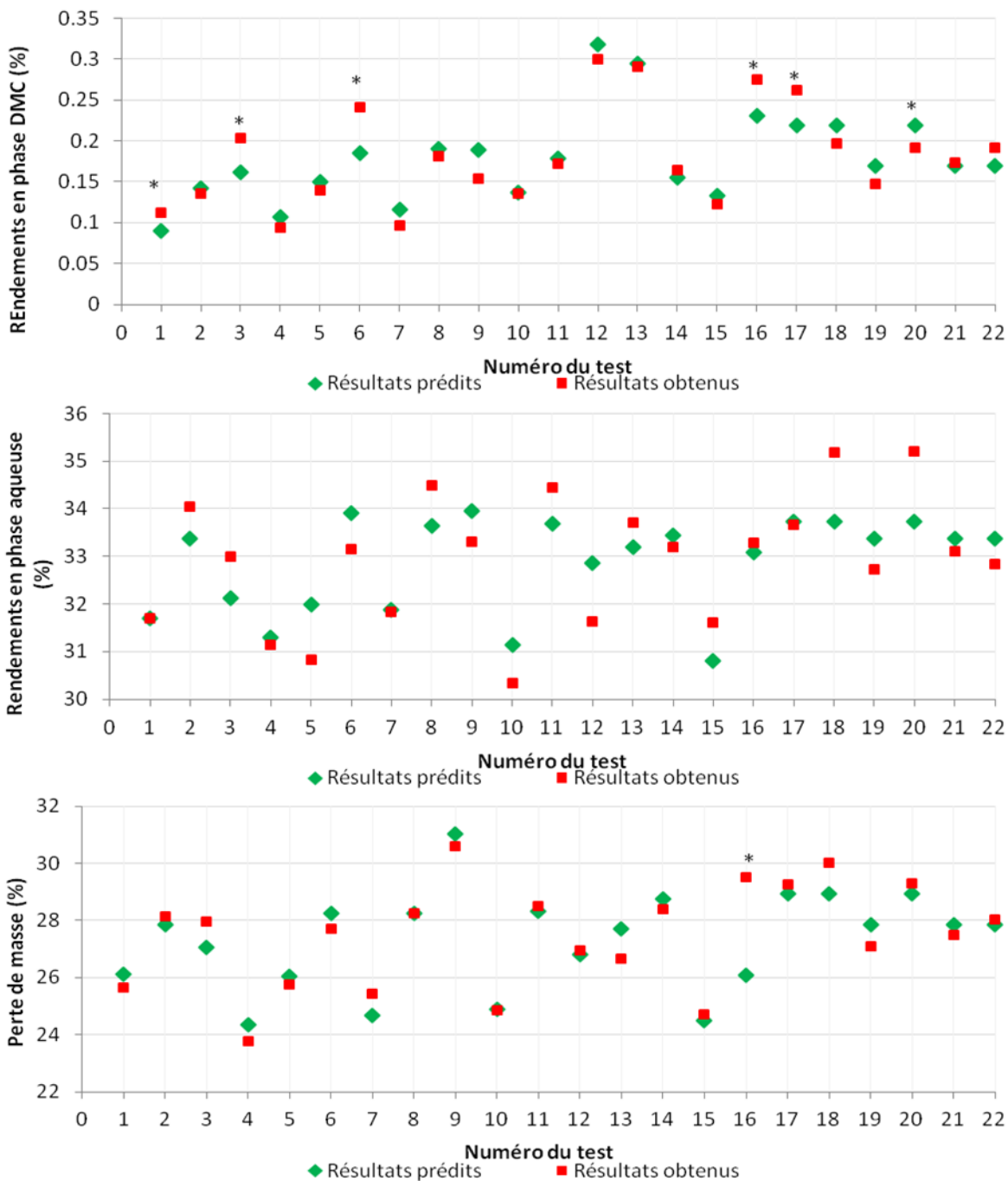
n-s: facteur non significatif, enlevé de l'analyse ANOVA.

Valeur-p <0,01 = ***, 0,01<= Valeur-p <0,05 = **, 0,05<= Valeur-p <0,10 = *, Valeur-p >=0,10 = °

Malgré les problèmes de prédictivité du modèle, le logiciel MatLab a été utilisé pour comparer les résultats obtenus aux résultats prédits (Figure 3.22). Ainsi, pour la perte de masse, le modèle prédictif peut être considéré comme valide vu que la différence entre les valeurs prédites et obtenues est en dessous de 5 % à chaque fois sauf pour la perte de masse du test 16. Malgré un modèle non-prédictif pour les extraits aqueux, les différences entre les résultats prédits et observés sont inférieures à 5 %. Ce qui fait que même si le R^2 du modèle est négatif, celui-ci peut quand même être utilisé pour prédire les résultats en extraits aqueux.

Enfin, concernant les extraits dans la phase DMC, à cause des très faibles valeurs mises en jeu, la moindre différence de 0,02 % dans les extraits obtenus peut produire une différence de plus de 10 % entre les valeurs prédites et celles obtenues. Ceci, associé à un R^2 de 0,49, fait que le

modèle n'est pas considéré comme valide pour les extraits organiques. Cependant, il est possible de constater que celui-ci est légèrement plus précis pour les particules de 250-425 µm que pour le sorgho brut. Cela s'explique par la plus grande hétérogénéité pour les particules brutes pouvant impacter plus grandement les rendements obtenus.



* Tests dont la différence entre la valeur obtenue et la valeur prédite est supérieure à 10 %

Figure 3.22 : Comparaison des résultats prédits et des résultats expérimentaux obtenus

II. 3. c Détermination des paramètres optimisant l'extraction

Malgré la faiblesse de prédiction du modèle, il était possible d'observer que la variation des paramètres pouvait influencer certaines réponses (rendement en extraits secs et perte de masse). Ainsi, les résultats du plan d'expérience ont été analysés à l'aide du logiciel JMP (version 11). En définissant les rendements en phase DMC comme facteurs à maximiser, le logiciel a déterminé des conditions « optimisées » pour atteindre cet objectif. Ces conditions, pour des particules de 250-425 μm , ont été testées pour vérifier la précision de la prédiction (Tableau 3.11). Les résultats montrent que la prédiction surestime les valeurs attendues excepté pour la perte de masse, ce qui est cohérent avec l'absence de prédictivité du modèle pour les extraits secs alors que le modèle est moyennement prédictif pour la perte de masse du sorgho.

Tableau 3.11 : Résultats des expériences avec les paramètres d'optimisation par le logiciel JMP, sur du sorgho de 250-425 μm

Résultats	Temps (min)	Amplitude des ultrasons (%)	Pression d'opération (psig)	Organiques (%)	Aqueux (%)	Perte de masse (%)
Prédits	5	63	16	0,33	33,12	28,00
Obtenus				0,28	29,91	28,25
Différence	-	-	-	15,15	9,69	0,89

Le logiciel JMP ne permettant pas de déterminer des conditions « optimisées » en fonction de la taille des particules utilisées, l'identification des paramètres « optimisés » a également été effectuée grâce au logiciel Design Expert[®]. Cependant, à cause de la quantité de paramètres étudiés, du faible nombre de réplicats effectués et de l'hétérogénéité de la biomasse, le logiciel n'a pas été capable d'identifier une unique combinaison de paramètres pour les particules fines. C'est pourquoi, trois conditions « optimisées » différentes ont été évaluées pour les particules fines et une seule pour les particules brutes (Tableau 3.12). Une fois encore, pour les particules fines, le modèle est adéquat pour les extraits aqueux et potentiellement utilisable pour la perte de masse, mais pas pour les extraits organiques. De plus, le modèle pour les extractions avec le sorgho brut n'est pas représentatif des résultats obtenus.

Tableau 3.12 : Résultats des expériences avec les paramètres d'optimisation par le logiciel Design Expert

Résultats	Temps (min)	Amplitude des ultrasons (%)	Pression d'opération (psig)	Organiques (%)	Aqueux (%)	Perte de masse (%)
Prédits A	5	66	23	0,33	33,31	28,69
Obtenus A				0,23	33,02	25,31
Différence				30,30	0,87	11,78
Prédits B	7min 50s	80	24	0,28	33,66	29,86
Obtenus B				0,28	31,97	25,49
Différence				0,00	5,02	14,63
Prédits C	5min 52s	91	20	0,25	33,36	29,78
Obtenus C				0,20	32,42	25,69
Différence				20,00	2,82	13,73
Prédits	30	83	13	0,195	33,67	27,88
Obtenus				0,13	23,71	19,89
Différence				33,33	29,58	28,66

Les tests au-dessus de la ligne sont effectués avec des particules de sorgho de 250-425 μm . Ceux en dessous sont fait avec du sorgho brut.

En général, il faut effectuer 100 tests pour pouvoir déterminer les conditions optimales afin d'avoir un maximum d'information et de minimiser les erreurs de prédiction. Le fait de n'avoir que 22 tests, 29 en comptant les réplicats, joue donc un rôle dans la faible prédictivité des conditions optimales. Cela est corroboré par le fait que le logiciel Design Expert[®] ne soit pas capable de donner un unique trio « temps/pression/amplitude des ultrasons » pour maximiser les rendements.

Cependant, l'utilisation des coefficients du Tableau 3.10 dans le logiciel Matlab a permis d'élaborer des surfaces de réponses pour visualiser l'évolution des différents rendements en fonction des différents paramètres.

II. 3. d Surfaces de réponses

En fonction de la taille des particules de sorgho utilisées et du rendement à maximiser (extraits en phase DMC, en phase aqueuse, ou la perte de masse du sorgho), les conditions d'opérations sont différentes. Cela peut donc influencer le choix de la conception du procédé. Une manière visuelle de représenter l'évolution des rendements obtenus, en fonction des paramètres utilisés, est l'utilisation de surfaces de réponses (Figures 3.23 à 3.29).

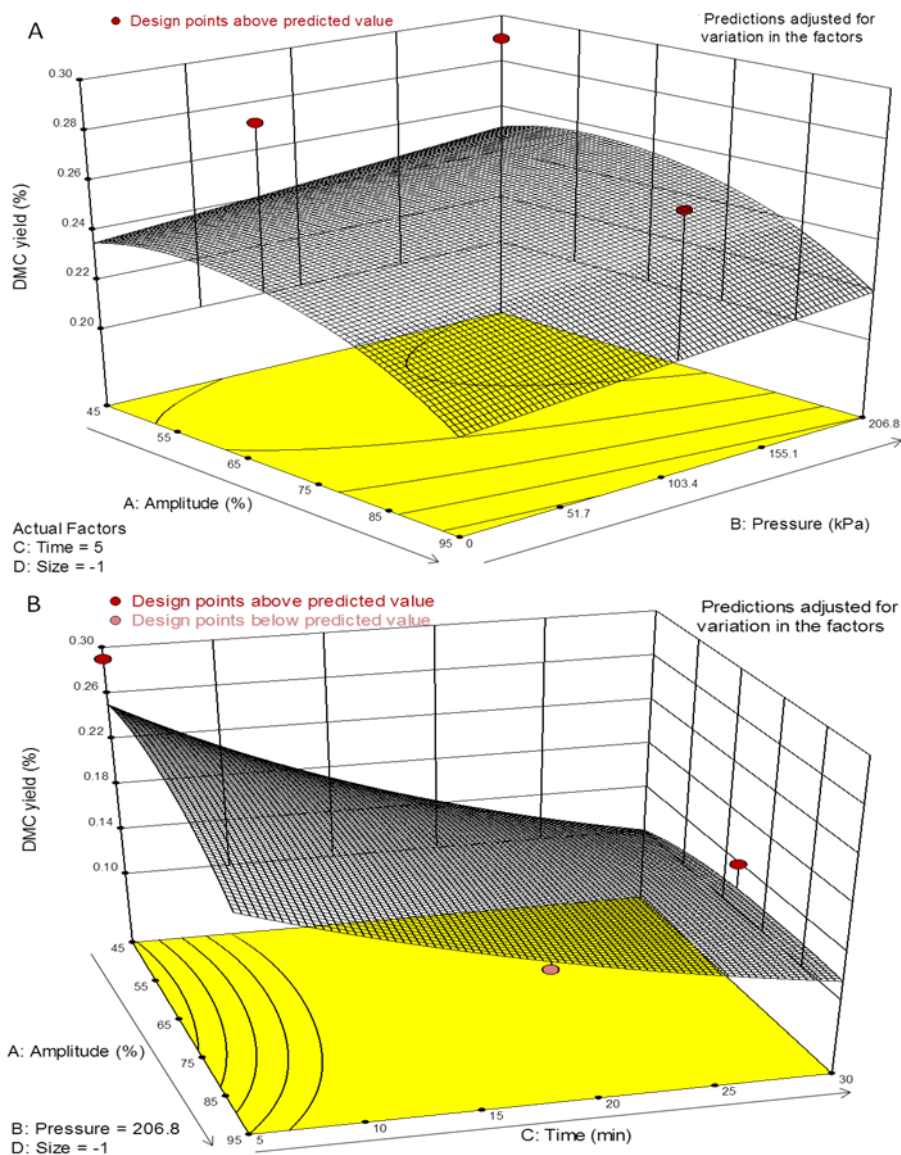
D'une manière générale, pour les particules de 250-425 μm , les rendements dans la phase DMC sont maximisés pour un temps d'extraction de 5 minutes, par une pression d'opération de 30 psig alliée à des ultrasons d'amplitude de 55 à 65% (Figure 3.23 A). Avec une pression d'opération de 30 psig, ces rendements sont maximisés par des temps courts d'extraction sans

influence notable de l'amplitude des ultrasons (Figure 3.23 B). Plus précisément, les rendements dans la phase DMC diminuent avec le temps (Annexe I, Figure I. 1). Le maximum d'extraits est donc atteint après 5 minutes (0,33 %) et ceux-ci diminuent pour atteindre 0,17 % après 30 minutes. Pour les rendements en phase organique, le maximum est toujours atteint avec la pression d'opération maximale (30 psig) et une amplitude des ultrasons entre 80 et 85%. Cette diminution des rendements s'explique par la modification chimique ou par la détérioration possible des extraits dans le temps à cause de l'exposition aux ultrasons et de la chaleur produite par ceux-ci, comme l'expliquent Grosso *et coll.* (2015) et Devgun *et coll.* (2012). En effet, ils ont pu constater que l'utilisation d'ultrasons pouvait diminuer les rendements en certaines molécules par rapport à la méthode en Soxhlet ou par macération. L'explication avancée dans ces études est la dégradation de ces molécules sous l'effet des ultrasons.

Pour les rendements en phase aqueuse, avec un temps de 15 minutes (Figure 3.24 A), une pression de 30 psig couplée à une amplitude des ultrasons de 95% maximise les rendements d'extraction. Pour une pression d'opération de 30 psig (Figure 3.24 B), de la même manière, des temps d'opération n'excédant pas 15 minutes sans influence notable de l'amplitude des ultrasons favorise l'extraction. Les rendements en phase aqueuse atteignent un maximum après 15 minutes (34 %) avant de diminuer autour de 33,3 % après 30 minutes (Annexe I, Figure I. 2). Au début, l'amplitude des ultrasons et la pression d'opération doivent être à leur maximum (95 %, 30 psig). À un temps de 17,5 minutes, le maximum de rendement est obtenu avec 95 % d'amplitude sans influence de la pression. Après ce temps, l'amplitude doit toujours être maintenue au maximum alors qu'aucune pression n'est nécessaire, celle-ci ne permettant plus d'augmenter les rendements.

Enfin, la perte de masse du sorgho après extraction est favorisée par l'application d'une pression de 30 psig et des ultrasons à 95% d'amplitude pour un temps d'extraction fixé à 5 minutes (Figure 3.25 A). Si la pression d'opération est fixée à 30 psig, le maximum de perte de masse est obtenu avec un temps d'extraction court sans influence de l'amplitude des ultrasons ou avec un temps d'extraction élevé associé à des ultrasons d'amplitude élevée (Figure 3.25 B). De manière plus précise, la perte de masse est maximale, à 31,5 %, après 10 minutes et diminue lentement jusqu'à 27,5 % après 30 minutes (Annexe I, Figure I. 3). Cela pourrait s'expliquer encore une fois par la possible réaction entre le DMC et la structure lignocellulosique du sorgho.

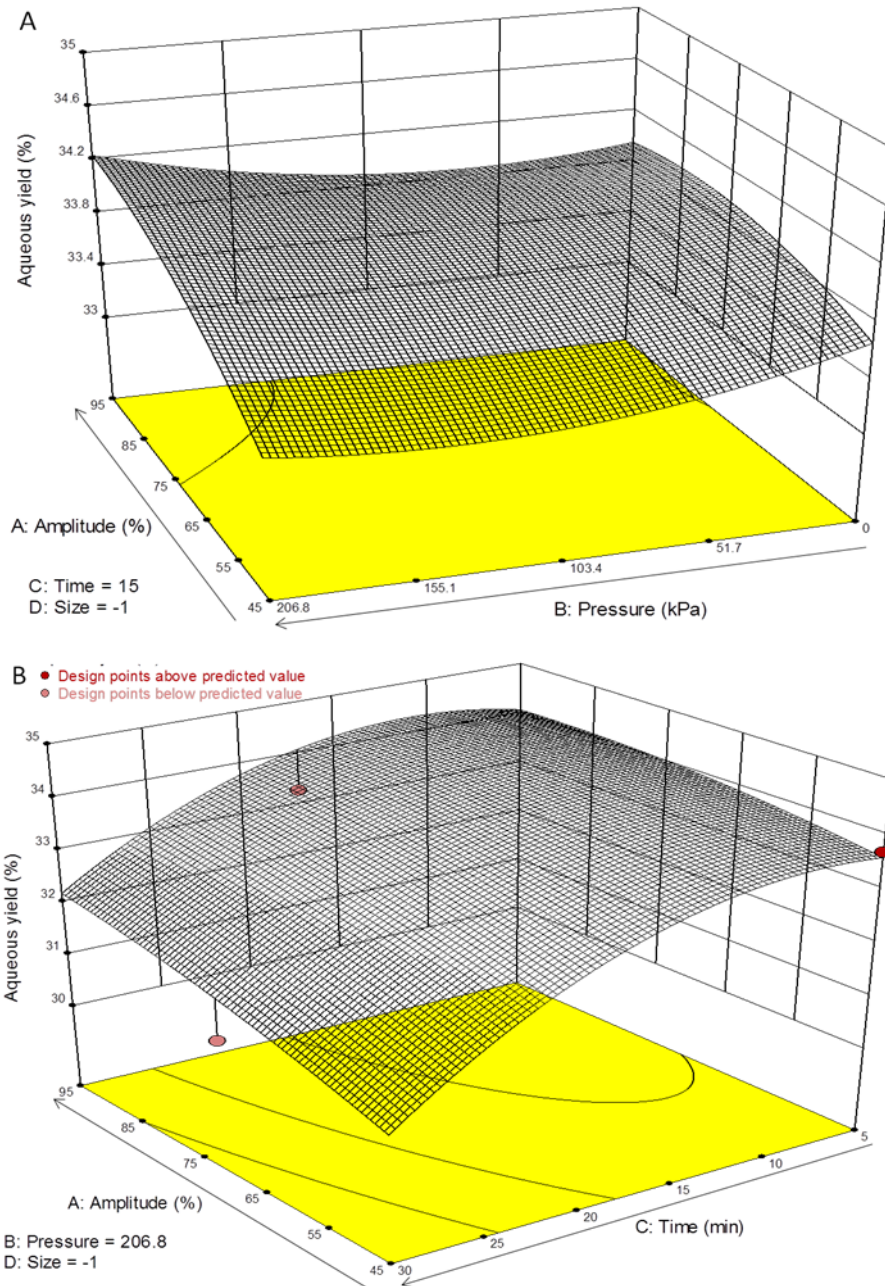
Afin de maximiser la perte de masse, une amplitude maximum des ultrasons (95 %) couplée à une pression d'opération maximum (30 psig) est nécessaire au début. Après 25 minutes d'extraction cependant, deux associations sont possible : avoir une pression d'opération de 0 psig sans influence de l'amplitude des ultrasons ou avoir une amplitude d'ultrasons maximale (95 %) sans influence de la pression d'opération.



A : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et de la pression d'opération avec un temps fixé à 5 minutes.

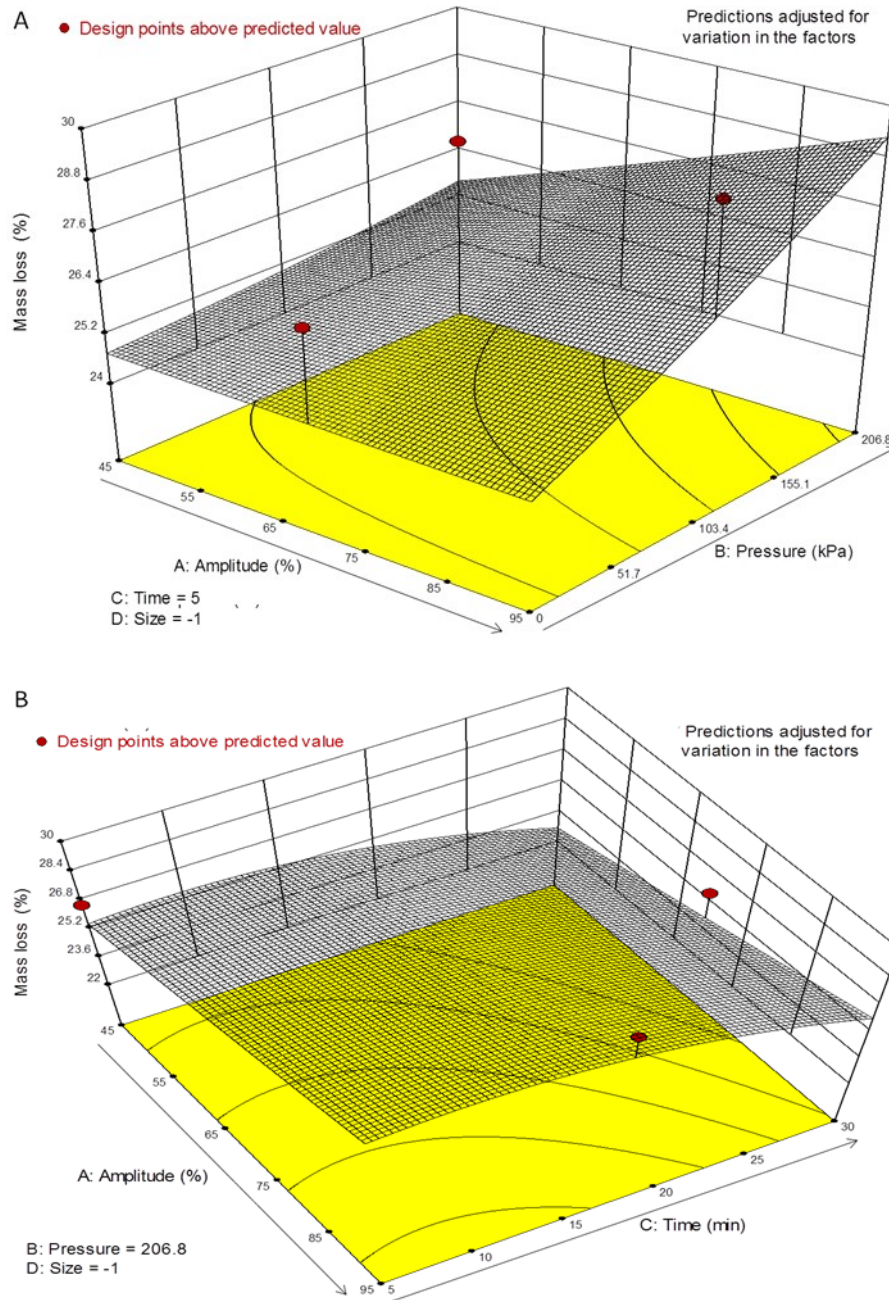
B : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et du temps d'opération pour une pression fixée à 30 psig.

Figure 3.23 : Surface de réponse (Design Expert) pour les rendements en DMC du sorgho de 250-425 μm après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)



A : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et de la pression d'opération avec un temps fixé à 15 minutes.
 B : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et du temps d'opération pour une pression fixée à 30 psig.

Figure 3.24 : Surface de réponse (Design Expert) pour les rendements en phase aqueuse du sorgho de 250-425 μ m après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)



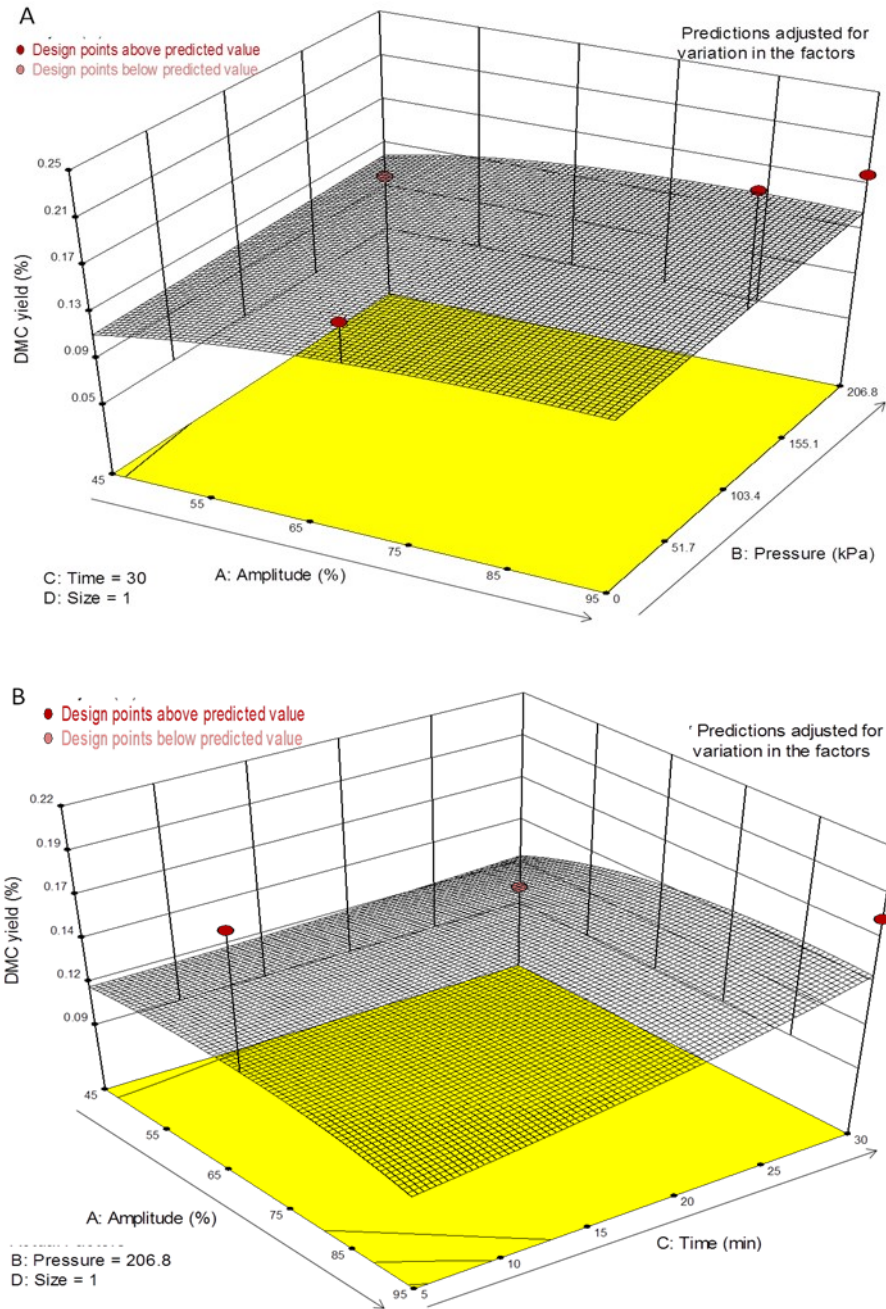
A : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et de la pression d'opération avec un temps fixé à 5 minutes.
 B : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et du temps d'opération pour une pression fixée à 30 psig.

Figure 3.25 : Surface de réponse (Design Expert) pour la perte de masse du sorgho de 250-425 μm après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)

Pour le sorgho brut, la même étude est effectuée. Ainsi, pour les rendements en extraits organiques (Figure 3.26 A et B, Annexe J Figure J. 1), ceux-ci augmentent avec le temps d'opération avec 0,16 % après 5 minutes puis 0,19 % après 25-30 minutes. L'évolution pour le sorgho brut est ici inverse à celui observé pour les particules fines. Ceci s'expliquant par la difficulté du solvant à atteindre les extractibles à l'intérieur des particules de grosse taille. Le solvant a donc besoin de plus de temps et de l'aide de la sonolyse des cellules pour capter les molécules. Un temps encore plus long pourrait cependant montrer une dégradation de ces extractibles. Tel que vu pour les particules fines, afin de maximiser les rendements en phase organique, il faut une pression de 30 psig associée à une amplitude d'ultrasons de 80-85 %.

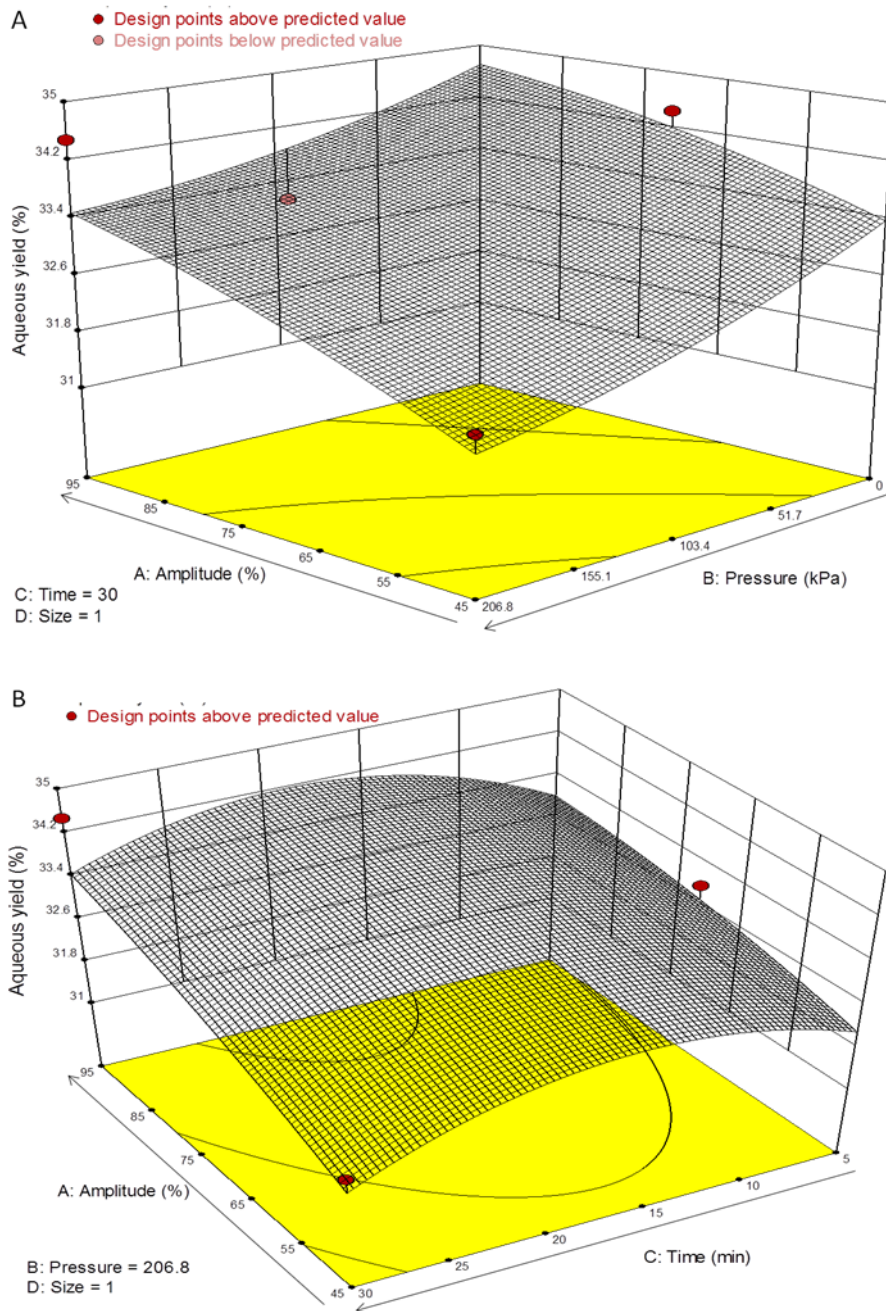
Pour les extraits aqueux (Figure 3.27 A et B, Annexe J Figure J. 2), plus le temps d'opération augmente plus les rendements augmentent, passant de 32,3 % après 5 minutes à 34,2 % après 25-30 minutes. Les mêmes conclusions que pour le DMC peuvent s'appliquer ici. L'augmentation de la taille des particules entraîne une augmentation du temps d'opération nécessaire pour maximiser les rendements. Tel qu'observé avec les fines particules, jusqu'à 17,5 minutes d'extraction, une pression de 30 psig associée à une amplitude de 95 % permettrait une extraction maximale. À 20 minutes, la pression n'a plus d'impact pour une amplitude de 95 %. Ainsi, travailler à pression atmosphérique, soit 0 psig, associée à une amplitude de 95 % est la meilleure option.

La perte de masse est quant à elle maximale, à 29,7%, après 17,5 minutes et diminue légèrement pour atteindre 28,9 % après 30 minutes (Figure 3.28 A et B, Annexe J Figure J. 3). Cela peut s'expliquer par la taille des particules qui limite l'accessibilité des extractibles aux solvants et freine la réaction entre la cellulose et le DMC. De la même manière que pour les particules fines, la perte de masse est maximisée par une pression de 30 psig et une amplitude de 95 % pendant les 25 premières minutes. Ensuite, encore une fois deux situations sont envisageables : travailler à 95 % d'amplitude sans impact de la pression ou travailler à pression atmosphérique sans impact de l'amplitude des ultrasons.



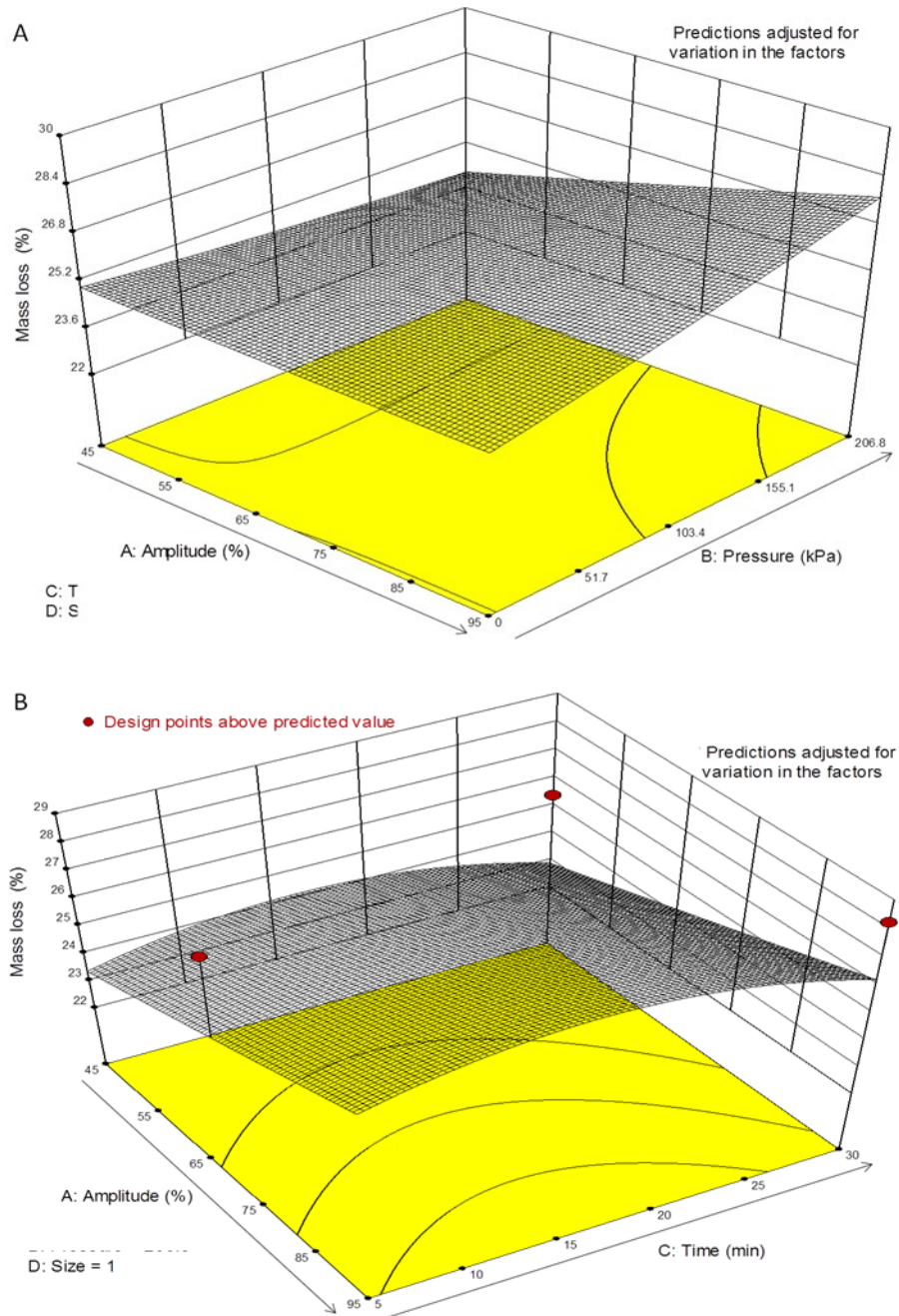
A : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et de la pression d'opération avec un temps fixé à 30 minutes.
 B : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et du temps d'opération pour une pression fixée à 30 psig.

Figure 3.26 : Surface de réponse (Design Expert) pour les rendements en DMC du sorgho brut après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)



A : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et de la pression d'opération avec un temps fixé à 30 minutes.
 B : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et du temps d'opération pour une pression fixée à 30 psig.

Figure 3.27 : Surface de réponse (Design Expert) pour les rendements en phase aqueuse du sorgho brut après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)



A : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et de la pression d'opération avec un temps fixé à 30 minutes.
 B : Réponse en fonction de l'amplitude des ultrasons et du temps d'opération pour une pression fixée à 30 psig.

Figure 3.28 : Surface de réponse (Design Expert) pour la perte de masse du sorgho brut après extraction en réacteur batch-piston au mélange eau/DMC (80/20 v/v)

II. 3. e Comparaison de l'efficacité du réacteur « batch-piston » aux autres méthodes

Comme précédemment, les extractions effectuées en réacteur « batch-piston » peuvent être comparées aux autres extractions effectuées lors de ce projet. Les résultats de ces comparaisons sont présentés ici :

- « Batch-piston » et « Batch » avec recirculation de l'émulsion, mélange eau/DMC :
Sorgho Brut : Extraction assistée par ultrasons à préférer à la macération, niveau de significativité : *
Sorgho 250-425 μm : Macération à préférer à l'extraction assistée par ultrasons, niveau de significativité : *

Ces observations sont contredites par deux études montrant que l'utilisation d'un bain à ultrasons permet d'augmenter les rendements en extraits secs par rapport à la méthode de macération [Dhanani *et al.*, 2013 ; Trendafilova *et al.*, 2010]. Cependant, les résultats sont cohérents avec trois études mettant en évidence que pour certaines molécules, avec certains solvants, l'utilisation d'ultrasons diminue les rendements par rapport à la macération ou l'extraction en Soxhlet [Bandar *et al.*, 2013 ; Devgun *et al.*, 2012 ; Grosso *et al.*, 2015]. Afin de déterminer quelle méthode est meilleure qu'une autre, il faut donc tenir compte de la biomasse et les solvants utilisés, ainsi que les molécules à extraire. De plus, dans le cas des ultrasons, l'utilisation d'un bain ou d'une sonde peut avoir une influence les résultats observés.

- « Batch-piston » et extraction en Soxhlet, mélange eau/DMC :
Sorgho de 250-425 μm : diminution du temps par un facteur de 6 et augmentation des rendements en phase aqueuse par un facteur de 2,4 ; pas d'influence sur les rendements en phase DMC.
Sorgho brut : diminution du temps par un facteur de 1,7 et augmentation des rendements en phase aqueuse par un facteur de 1,4 ; pas d'influence sur les rendements en phase DMC.

Quelque soit la taille des particules, le réacteur « batch-piston » est à privilégier par rapport aux extractions en Soxhlet (valeurs- $p < 0,05$). Ces observations sont cohérentes avec l'étude de Nait Sidi Ahmed (2012) qui avait utilisé ce même mélange sur du saule. De la même manière, l'étude réalisée par Bandar *et coll.* (2013) montre la capacité de

l'extraction assistée par ultrasons à réduire le temps d'opération tout en augmentant les rendements par rapport à la méthode en Soxhlet. Yu *et coll.* (2016) ont également démontré le potentiel des ultrasons sur l'extraction aqueuse de polyphénols et de protéines de colza. En effet, en utilisant une sonde à ultrasons, ils obtiennent des rendements en protéines et en polyphénols supérieurs à ceux obtenus par extraction à l'eau chaude ou froide. Cependant, Halfadji *et al.* (2013) ont constaté que dans le cas de l'extraction de polychlorobiphényles, la l'extraction en Soxhlet est plus efficace que l'utilisation d'un bain à ultrasons. De plus, l'étude de Corbin *et coll.* (2015) ont démontré qu'en fonction des molécules étudiées, l'extraction assistée par ultrasons pouvait être plus efficace que l'extraction en reflux. Ainsi, l'UAE est plus efficace pour l'acide p-coumarique alors que pour l'acide férulique, la méthode en reflux est à privilégier. Porevsky *et coll.* (2014) ont observé la même tendance avec l'extraction d'hydrocarbures polycycliques aromatiques, puisqu'en fonction de leur masse molaire, l'efficacité de l'UAE par rapport à l'extraction en Soxhlet varie. La nature des molécules extraites, de la biomasse et des solvants utilisés ont donc une influence sur l'efficacité des méthodes.

- « Batch-piston » et méthode ASTM :

Il n'y a pas de différence significative quant aux extraits secs totaux mais des différences importantes en faveur de la méthode ASTM (valeurs-p < 0,001) pour les rendements en extraits aqueux et organiques entre les deux méthodes.

Une fois l'étude sur le sorgho effectuée, et les réacteurs ayant été développés pour pouvoir être utilisés sur différents types de biomasses, des tests ont également été effectués sur du saule, soit du bois tendre, et des microalgues.

II. 4. Application sur le saule

Afin de déterminer d'un point de vue industriel le potentiel de ces méthodes, les procédés d'extraction ont été testés sur un autre type de biomasse lignocellulosique, à savoir le saule (*Salix miyabeana*).

Le saule produit plusieurs familles de molécules ayant des propriétés médicinales telles que des propriétés analgésiques et anti-inflammatoires. La molécule la plus connue issue du saule est sans doute la salicyline, entrant dans la composition de l'aspirine [Bonaterra *et al.*, 2010].

II. 4. a Extractions en Soxhlet

Pour connaître l'efficacité des méthodes développées, il faut tout d'abord déterminer les valeurs cibles obtenues par la méthode ASTM D1105-96. Ainsi, la Figure 3.29 montre que les rendements d'extraction sont d'environ 6,6 % pour les extraits secs et d'environ 7,8 % pour la perte de masse du saule. De plus, le saule utilisé semble contenir environ 3,4 % d'extraits hydrophobes et 3,2 % d'extraits hydrophiles.

Grâce aux valeurs de références obtenues par la méthode ASTM D1105-96, il est possible de comparer l'efficacité du DMC pour l'extraction des métabolites du saule (Figure 3.30). Ainsi, il est possible de remarquer qu'en faisant une extraction au Soxhlet avec du DMC suivie d'une extraction à l'eau (toujours en Soxhlet), les rendements en extraits secs passent à 5,3 % environ, pour une perte de masse de 5,4 %. De plus, cette méthode permet d'obtenir 0,16 % d'extraits hydrophiles de plus que la méthode ASTM. Ceux-ci devaient probablement se retrouver dans l'éthanol. Quant au DMC, celui-ci ne permet de solubiliser que 2 % d'extraits hydrophobes. Il est donc possible de conclure, ici aussi, que le DMC ne permet pas de capter la totalité des extraits hydrophobes présents dans le saule. Cela vient confirmer les observations faites avec le sorgho, comme quoi le DMC est moins efficace que le mélange éthanol/toluène pour l'extraction des métabolites apolaires, justifié par sa polarité supérieure à celle du toluène.

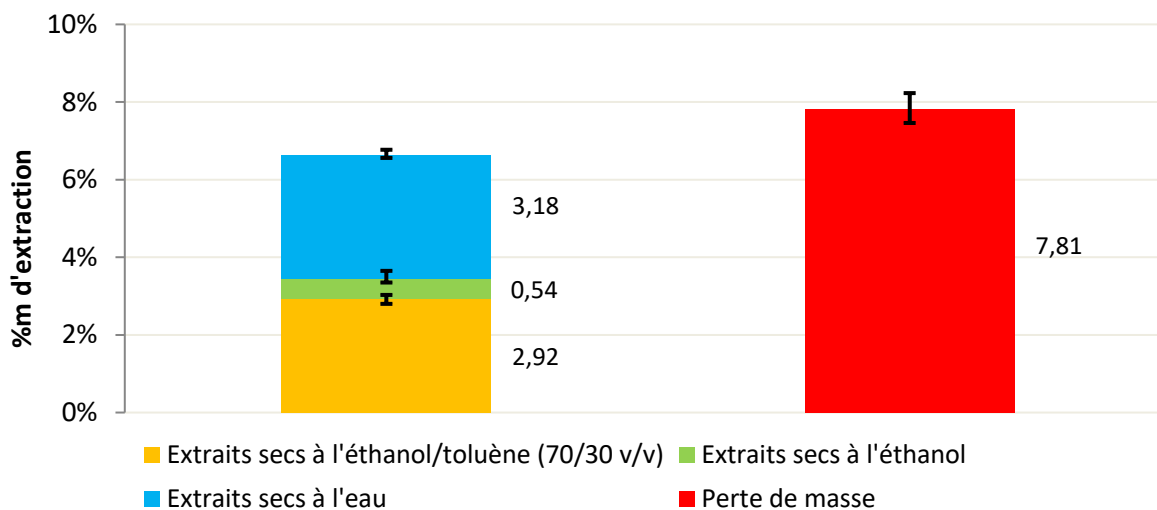


Figure 3.29 : Rendements des extractions (%) de *Salix miyabeana* (250-425 µm) par la méthode ASTM D1105-96

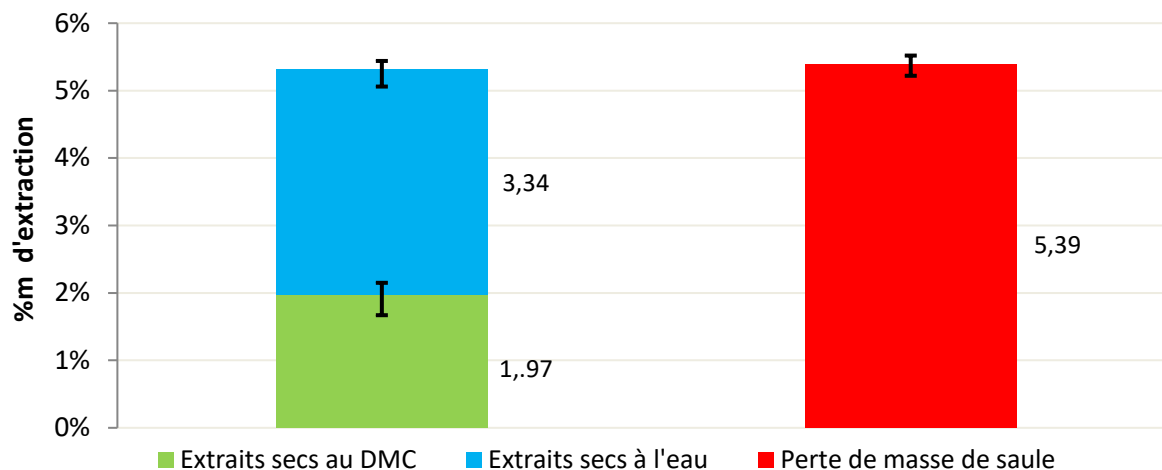


Figure 3.30 : Rendements d'extraction (%) au DMC (6h) puis à l'eau (5h) en Soxhlet, *Salix miyabeana* 250-525µm

Les potentiels d'extraction de l'eau et du DMC ont été déterminés, il faut ensuite savoir quel est l'efficacité du mélange eau/DMC (80/20 v/v). Ainsi, lorsque le mélange eau/DMC est utilisé (Figure 3.31) l'eau va venir capter 4,1 % d'extraits, alors que le DMC ne solubilisera que 0,6 % d'extraits. L'eau solubilise 0,8 % d'extraits de plus que lorsque seule l'eau est utilisée pour l'extraction. Ces différences peuvent s'expliquer par l'azéotrope que forme l'eau et le DMC. Une part d'extraits hydrophiles se retrouvera donc dans la phase DMC et inversement. Cependant, une diminution du rendement d'extraits totaux est tout de même observée, avec seulement 4,7 % d'extraits au lieu des 5,3 % observés à la Figure 3.30. À noter que la perte de masse passe à 5,7 % mais cela peut provenir de perte lors des manipulations.

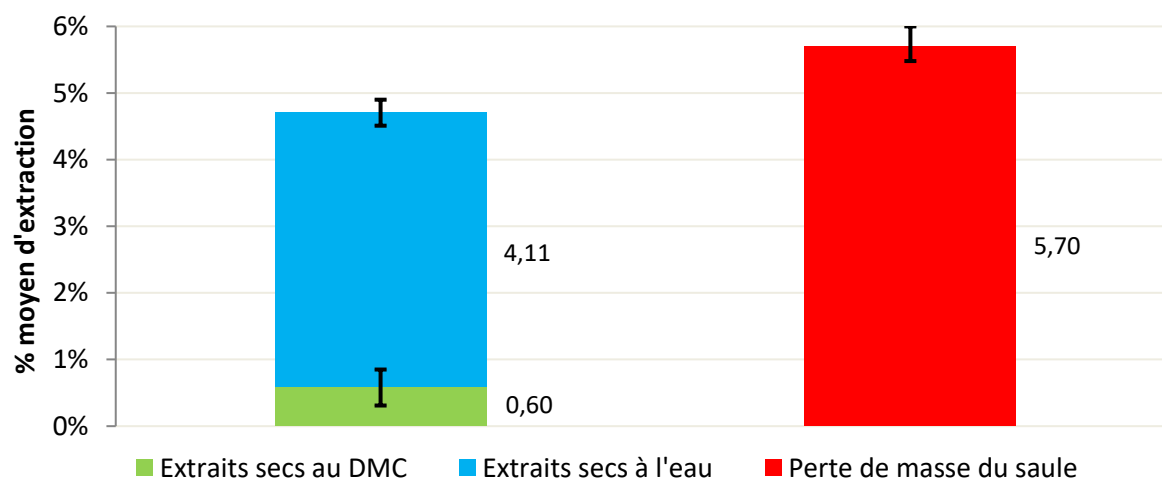


Figure 3.31 : Rendements de l'extraction en Soxhlet au mélange eau/DMC (80/20 v/v) (6 h), *Salix miyabeana* 250-425 µm

Le mélange eau/DMC est donc moins efficace en termes de rendements en extraits en phase DMC que la succession de Soxhlet (DMC puis eau). L'utilisation du réacteur « batch-piston » a donc été envisagée pour essayer d'augmenter les rendements obtenus avec le mélange eau/DMC.

II. 4. b Extractions avec le réacteur « batch - piston »

Les rendements d'extraction du mélange eau/DMC (80/20 v/v) étant maintenant déterminées, il s'agissait ici d'essayer de les atteindre (voire de les dépasser) en exploitant le phénomène de sonolyse.

En utilisant le réacteur « batch - piston », plusieurs amplitudes ont été testées, soit 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, sans ajout de pression. Les temps d'opérations sont d'ici 1 h avec des particules de 250-425 μm .

La Figure 3.32 montre des rendements d'extractions au DMC de l'ordre de 0,3 % quelle que soit l'amplitude des ultrasons utilisée. Pour les rendements en extraits aqueux, ceux-ci passent de 2 % pour une amplitude de 70 % ou 80 %, à 2,26 % pour une amplitude de 90 % et à 2,6 % pour 95 % d'amplitude des ultrasons.

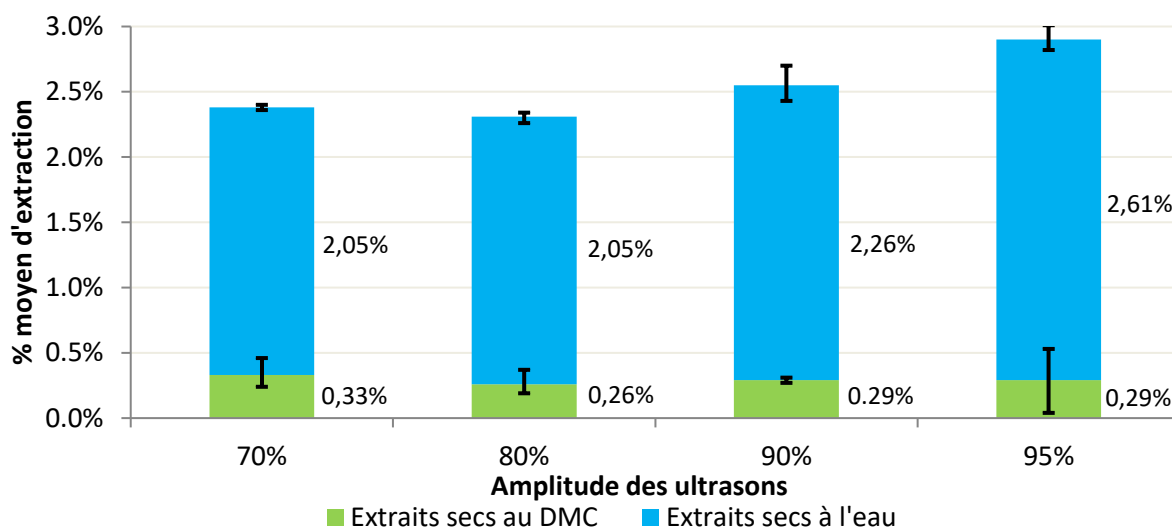


Figure 3.32 : Rendements des extractions au mélange eau/DMC (80/20 v/v) (1 h), en réacteur « batch - piston », sans pression interne, *Salix miyabeana* 250-425 μm

Les extractions sans pression interne, en 1 h, ne permettent donc pas d'atteindre les rendements obtenus en Soxhlet, quelle que soit l'amplitude des ultrasons utilisée, à savoir 0,6 % d'extraits hydrophobes et 4.1 % d'extraits aqueux. L'ajout de pression pourrait permettre d'augmenter les rendements obtenus et serait une voie à envisager.

II. 5. Tests sur des micro-algues

À l'heure actuelle, la recherche sur les biocarburants se tourne de plus en plus vers des carburants de troisième génération. Ceux-ci utilisent des micro-algues comme matière première car celles-ci sont riches en lipides et ont une croissance rapide par rapport à la biomasse lignocellulosique. Elles ont également la particularité d'utiliser le dioxyde de carbone pour croître et peuvent se développer dans des eaux usées, ce qui en fait un atout intéressant pour l'industrie.

Des tests ont donc été réalisés sur des suspensions de micro-algues, en bécher, pour voir si l'utilisation d'ultrasons était possible pour briser les cellules. Cependant, en raison de la conformation sphérique des micro-algues, les ultrasons ne sont pas efficaces pour briser les parois cellulaires. Les résultats obtenus n'étaient donc pas concluants. L'utilisation du réacteur « batch »-piston avec ajout d'une pression interne d'opération aurait pu être envisagée, mais ces tests n'ont pas pu être faits faute de temps.

CHAPITRE 4 : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La biomasse lignocellulosique est l'une des matières premières pouvant servir à la production de biocarburant de deuxième génération. Cette biomasse peut provenir de résidus forestiers ou agricoles, mais aussi de cultures énergétiques. Parmi les différentes plantes utilisées comme cultures énergétiques, le sorgho sucré à l'avantage d'être riche en sucres libres, fermentables en bioéthanol. De plus, il peut croître sur des sols pauvres en nutriments, ne pouvant être utilisé par l'agriculture, avec de faibles apports en eau. Il est également capable de se développer sous des climats aussi bien tropicaux que sub-tropicaux ou tempérés. Ces caractéristiques en font une plante de choix pour la production de biocarburants de deuxième génération. Cependant, cette production se heurte encore à des problèmes de rentabilité économique par rapport aux carburants d'origine fossile. Dans l'objectif de viabiliser la production de biocarburants, le concept de bioraffinerie, et l'exploitation de la totalité des composés carbonés de la biomasse lignocellulosique, est de plus en plus étudié. En maîtrisant la chaîne de valeur, de la production de matière première à la vente des produits finis, la viabilité de la production des biocarburants pourrait être facilitée. Ainsi, les étapes de prétraitements sont des étapes clés, qui permettraient d'isoler des composés à haute valeur ajoutée, pouvant intéresser les industries pharmaceutiques, cosmétiques ou agroalimentaires. La méthode normée pour l'obtention d'une biomasse exempte d'extractibles, ASTM D1105-96, utilise une série de trois extractions à l'aide de solvants organiques et d'eau. Cela permet de solubiliser, successivement, les composés apolaires puis polaires. Cependant, cette méthode requiert un temps d'extraction de 11h, auxquelles doivent s'ajouter les temps de séchage à l'air entre chaque extraction. Les méthodes conventionnelles utilisées en industrie (macération, hydrodistillation, percolation, etc) reposent sur le même principe que la méthode normée, soit la succession de solvants de polarités différentes. En plus des temps d'extraction longs (plusieurs heures), la quantité de solvants utilisée est également conséquente, afin de pallier au phénomène de saturation [Chemat, 2014]. De plus, les solvants organiques utilisés en industrie sont généralement toxiques ou dangereux pour l'environnement. De plus en plus d'études se tournent donc vers des méthodes plus courtes et utilisant moins de solvants. Parmi ces nouvelles méthodes, l'extraction assistée par ultrasons est celle étudiée au sein de la Chaire de Recherche Industrielle sur l'Éthanol Cellulosique et les Biocommodités, CRIEC-B. De plus, dans le but de réduire les étapes d'extraction, et donc possiblement le

temps de traitement, l'utilisation d'une émulsion de solvants apolaire et polaire permettrait d'extraire à la fois les métabolites polaires et apolaires. Aucune étude n'a encore été publiée sur l'utilisation d'émulsion pour l'extraction de métabolites de la biomasse. Le potentiel des émulsions pour remplacer les extractions successives serait une avenue à prendre en considération pour des recherches futures. Afin de réduire les temps d'opération, des extractions sur du sorgho sucré ont été effectuées avec une émulsion eau/DMC (80/20 v/v). Ce solvant, non toxique et pouvant être synthétisé à partir de composés bio-sourcés, serait une alternative aux solvants organiques toxiques. Pour ce projet, deux procédés d'extraction ont été conçus. Le réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion à travers le lit de biomasse, permet une extraction par macération, des composés apolaires et polaires en une étape. Le réacteur « batch – piston », quant à lui, repose sur le principe d'extraction assistée par ultrasons. La biomasse, l'eau et le DMC sont mis en contact avec les ultrasons. Ces derniers vont ainsi créer l'émulsion eau/DMC et, en même temps, vont aider la sonolyse de la paroi cellulaire de la biomasse, libérant le contenu des cellules dans le milieu, facilitant l'extraction des métabolites. L'ajout de pression pourrait permettre d'augmenter l'efficacité de l'extraction. Des extractions préalablement effectuées, suivant la méthode ASTM D1105-96, et en Soxhlet, servent de base de comparaison aux résultats obtenus avec les deux systèmes d'extraction développés.

Concernant les résultats obtenus, l'extraction conventionnelle en extracteur Soxhlet sur des particules de 250-425 μm permet d'obtenir 34 % de métabolites en 11 h (ASTM D1105-96). Le mélange eau/DMC, en Soxhlet, permet quant à lui d'obtenir 29,9 % en 4 h seulement sur des particules fines et 28,5 % sur du sorgho brut. La méthode ASTM permet cependant d'extraire plus de métabolites hydrophobes que le mélange eau/DMC.

L'utilisation du réacteur « batch » permettant la recirculation de l'émulsion eau/DMC à travers un lit fixe de sorgho a ensuite été testée. Les extractions ont été réalisées à température ambiante. Les résultats obtenus montrent qu'une extraction de 5 minutes, à un débit de recirculation de 370 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, permet de meilleurs rendements qu'avec un extracteur Soxhlet en 4h avec le même mélange. Ainsi, en fonction de la taille des particules, entre 30 et 35 % de composés hydrophiles sont respectivement extraits, pour du sorgho brut et des particules de 250-425 μm . La quantité de composés hydrophobes est respectivement de 0,3 et 0,4 %. Les rendements supérieurs à ceux observés en Soxhlet

peuvent s'expliquer par la non-détérioration des molécules thermosensibles. De plus, les coûts énergétiques d'opération sont réduits avec le réacteur « batch », puisqu'aucun chauffage n'est requis. Enfin, la réduction des temps d'opération, passant de 5 minutes au lieu de plusieurs heures avec la méthode ASTM D1105-96 pourrait être très intéressante d'un point de vue industriel. Cependant, la quantité de composés hydrophobes est significativement réduite par rapport à la méthode de référence.

Lorsque l'extraction de la biomasse (250-425 μm) est assistée par ultrasons (réacteur « batch - piston »), les meilleurs résultats sont de 35,4 % de métabolites extraits en 17,5 minutes à 15 psig de pression et avec une amplitude des ultrasons de 70 %. De la même manière, sur du sorgho brut, les rendements maximaux sont de 34,6 %, obtenus après 30 minutes à 30 psig et avec 95 % d'amplitude des ultrasons. L'ajout de pression et la mise en contact de la biomasse avec les ultrasons permet donc d'augmenter de presque 5 % les rendements en métabolites pour des particules de sorgho brut par rapport à la macération (« batch » avec recirculation de l'émulsion). Pour augmenter la précision du modèle utilisé pour prédire les résultats en fonction des paramètres utilisés, et ainsi déterminer les conditions maximisant les rendements, l'augmentation du nombre d'essais pour le plan d'expérience serait une approche à envisager. L'extraction assistée par ultrasons permet ainsi d'obtenir les mêmes rendements quelque soit la taille des particules utilisées. Le choix de la technique d'extraction est donc à faire en fonction de la taille des particules et des temps d'extraction désirés.

Si on considère qu'un gramme de sucre permet de produire 0,51 g d'éthanol par fermentation avec *Saccharomyces cerevisiae*, et si on considère que les extraits hydrophiles sont essentiellement des sucres fermentescibles, il serait alors possible de produire entre 153 et 178 kg d'éthanol par tonne de biomasse, pour des rendements d'extraction de 30 à 35 % [Krishnan et al., 1999].

Le choix de la biomasse ainsi que des solvants utilisés se fait en fonction de la nature des composés extractibles. Le sorgho sucré étant riche en sucres libres, l'eau est un solvant adéquat pour permettre une bonne extraction de ceux-ci. Cependant, seulement 3,5 % d'extraits sont solubilisables dans le DMC, ce n'est donc pas forcément le solvant le plus adapté à cette biomasse. Dans l'objectif d'augmenter les rendements en phase organiques, un mélange eau/DMC/méthanol (10/72/18 v/v/v) a été testé à la place du mélange eau/DMC. En utilisant le

réacteur « batch-piston » et des conditions testées avec le mélange eau/DMC, les extraits en phase organique ont alors pu être plus que doublés, avec un rendement de 0,66 % au lieu de 0,28 %. À l'inverse, une diminution des extraits dans la phase aqueuse a été observée avec 22,4 % au lieu de 29,9 %. L'ajout de méthanol a donc permis d'augmenter l'extraction en solubilisant des molécules qui n'étaient pas forcément solubles dans le DMC. La diminution du volume de la phase aqueuse a probablement entraîné une saturation de celle-ci, diminuant ainsi les rendements d'extraction totaux.

Le choix des solvants d'extraction est donc à considérer en fonction des résultats souhaités et des molécules à extraire. De plus, bien que des composés phénoliques se retrouvent dans la tige du sorgho sucré [Massey *et al.*, 2014], les tannins, les acides phénoliques ou encore les phytostérols se retrouvent majoritairement dans les graines [Awika et Rooney, 2004]. Le sorgho utilisé dans ce projet avait été sélectionné pour minimiser la formation de grains et favoriser la production de sucres dans la tige. Cela peut expliquer les faibles rendements en molécules hydrophobes obtenus.

L'efficacité de l'extraction des métabolites de la biomasse repose donc sur différents paramètres. Dans un premier temps, l'identification et la quantification des métabolites extraits permettraient d'orienter le choix des solvants et des méthodes. Pour s'assurer d'une extraction optimale, il faut donc choisir les solvants les plus adaptés au type de biomasse traitée. Dans ce projet, bien que le DMC ait été utilisé, il aurait été intéressant de le remplacer par un solvant plus polyvalent. Une autre option aurait été d'utiliser une biomasse plus riche en composés hydrophobes. De plus, en fonction des résultats souhaités (nature des extraits) et des paramètres opératoires favorisés (volume de solvants, temps d'opération, taille des particules utilisées), les méthodes les plus efficaces ne sont pas forcément les mêmes.

L'utilisation d'émulsion solvant polaire/solvant apolaire reste cependant très intéressante pour limiter le nombre d'étape et ainsi réduire les temps et les coûts d'opération. Aucun article ne porte sur l'utilisation de telles émulsions pour faire l'extraction de la biomasse lignocellulosique malgré le potentiel de celles-ci. Il serait donc intéressant de poursuivre les recherches dans ce sens pour identifier les meilleurs solvants et ratios à utiliser en fonction de la biomasse utilisée, des types de molécules recherchées et du procédé utilisé (réacteur avec recirculation ou « batch – piston »). De plus, le réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion à travers le lit de

biomasse peut être modifié et adapté pour obtenir un réacteur en continu, plus intéressant pour une orientation à des fins industrielles.

Enfin, les paramètres étudiés pour le réacteur « batch-piston » étaient l'amplitude des ultrasons, le temps d'extraction et la pression d'opération, avec un ratio biomasse/solvant fixé à 1/20 (m/v). L'appareil utilisé était une sonde ultrasonique de 20kHz et de 750 W. Plusieurs études ont cependant démontré que la puissance des ultrasons, le ratio biomasse/liquide et la température jouaient un rôle important dans l'efficacité de l'extraction. Ainsi, Chen *et coll.* (2011) ont mis en évidence un point d'inflexion dans la corrélation entre de la puissance des ultrasons (en W) et les rendements en polysaccharides à partir de noyau de litchi. L'augmentation de la puissance permet d'augmenter les rendements, jusqu'à une valeur limite au-delà de laquelle les rendements diminuent, probablement dû à un phénomène de dégradation des molécules. De la même manière, ils ont démontré que lorsque le ratio liquide/biomasse augmente, les rendements augmentent également. Il en est de même pour l'influence du temps d'extraction. Ghafoor *et coll.* (2009) ont observé les mêmes tendances quant au temps d'extraction et à la concentration du solvant pour l'extraction de composés phénoliques, d'antioxydants et d'anthocyanines de pépins de raisins. Ils ont également remarqué que l'augmentation de la température du milieu permettait d'obtenir de plus hauts rendements d'extraction. L'étude montre également qu'en fonction des molécules étudiées, les paramètres d'optimisation pour l'extraction diffèrent. Ying *et coll.* (2011) ont constaté les mêmes corrélations que Chen *et coll.* (2011) quant à l'effet de la puissance des ultrasons qui, au-delà d'une valeur seuil, a pour effet de décomposer les polysaccharides des feuilles de mûrier. Ils ont également observé la même tendance pour la température et le temps d'extraction. Dans les deux cas, au-delà d'une valeur seuil, des phénomènes de dégradation viennent diminuer les rendements. De la même manière, leur étude a démontré qu'en augmentant le ratio liquide/biomasse, les rendements d'extraction augmentent, jusqu'à un ratio où l'augmentation de celui-ci ne permet plus d'augmentation significative des rendements. L'étude de ces paramètres pourrait ainsi améliorer les extractions effectuées sur le sorgho sucré. De plus, l'utilisation d'une sonde à ultrasons au lieu d'un bain diminue la répétabilité et la reproductibilité des résultats (Khoddami *et al.*, 2013). L'utilisation d'un bain à ultrasons serait donc à envisager pour vérifier les observations faites dans ce projet.

ANNEXES

Annexe A : Protocole de détermination de la masse sèche de la verrerie

Pour avoir des mesures exactes quant à l'efficacité de l'extraction, il faut s'assurer d'avoir la masse sèche de la verrerie.

1. Placer la verrerie propre au four à 105 °C pendant 24 h.
2. Après 24 h, mettre la verrerie au dessiccateur pendant 15 minutes afin qu'elle soit à température pièce.
3. Peser la verrerie et noter la masse sèche.

Annexe B : Protocole de détermination de la masse sèche de la biomasse

Il s'agit ici de déterminer la masse de la biomasse avant extraction pour ensuite pouvoir déterminer la quantité de molécules extractibles extraites.

1. Peser la cupule en métal, noter la masse.
2. Ajouter environ 1 g de biomasse, noter la masse cupule avec la biomasse.
3. Placer la cupule avec la biomasse au four à 105 °C pendant 24 h. Puis les placer au dessiccateur pendant 15 minutes afin que l'ensemble soit à température pièce.
4. Peser la cupule et la biomasse sèche, noter la masse.
5. Calculer le pourcentage d'humidité de la biomasse à l'aide de l'équation 1 :

$$\text{Humidité initiale de la biomasse (\%)} = \frac{\text{Biomasse humide (g)} - \text{Biomasse sèche (g)}}{\text{Biomasse sèche (g)}} \times 100 \quad (3.1)$$

La masse de biomasse humide est obtenue en soustrayant la masse de la cupule à la masse notée au point 2. Celle de la biomasse sèche s'obtient de la même manière en utilisant la masse notée au point 4.

6. Déterminer la masse sèche initiale de la biomasse en utilisant l'équation 2 :

$$\text{Masse sèche initiale de la biomasse avant extraction (g)} = \frac{\text{Biomasse humide avant extraction (g)}}{1 + \text{Humidité initiale de la biomasse (\%)}} \quad (3.2)$$

Annexe C : Protocole de détermination du pourcentage d'extraction obtenu par perte de masse de la biomasse

Il s'agit ici de déterminer la perte de masse de l'échantillon pour évaluer le rendement, et donc l'efficacité de l'extraction.

1. Déterminer la masse sèche initiale de la biomasse avant extraction (selon la méthode vue précédemment)
2. Après extraction, placer l'échantillon de biomasse (dans la cartouche de cellulose ou le Büchner avec verre fritté) dans le four à 105 °C pendant 24 h.
3. Après 24 h, placer l'ensemble dans un dessiccateur pendant 15 minutes pour qu'il soit à température pièce.
4. Peser l'échantillon de biomasse et son contenant, noter la masse.
5. Déterminer le pourcentage d'extraction par perte de masse de la biomasse (équation 3) :

$$\text{Perte de masse de la biomasse (\%)} = \frac{\text{Biomasse sèche avant extraction (g)} - \text{Biomasse sèche après extraction (g)}}{\text{Biomasse sèche avant extraction (g)}} \times 100 \quad (3.3)$$

Annexe D : Protocole de détermination du pourcentage d'extraction par extraits secs obtenus après extraction

Afin de s'assurer de l'exactitude des données d'extraction, il faut pouvoir comparer la masse d'extraits obtenue et la perte de masse de la biomasse. Il est donc nécessaire de déterminer la quantité de molécules hydrophiles et hydrophobes extraites par la méthode utilisée. Cela passe par la détermination la masse sèche de ces extraits.

1. Déterminer la masse sèche initiale de la biomasse avant extraction (selon la méthode vue précédemment)
2. Après extraction, filtrer sous vide le mélange biomasse/émulsion
3. Récupérer l'émulsion et la placer dans des tubes à centrifuger
4. Centrifuger l'émulsion : 4500 G, 3 min
5. Récupérer et séparer la phase organique et de la phase aqueuse
6. Noter le volume de chaque phase
7. Dans une cupule en aluminium pré-pesée, déposer un volume connu de chaque phase.
8. - Pour la phase aqueuse, placer la cupule au congélateur puis au lyophilisateur jusqu'à obtention des extraits secs.
- Pour la phase organique, placer la cupule dans le four à vide (40 °C, -30 psig) jusqu'à obtention des extraits secs
9. Placer les cupules avec les extraits secs dans le dessiccateur pour qu'elles soient à températures pièce.
10. Peser les masses sèches des cupules avec les extraits secs.
11. Déterminer la masse des extraits secs en soustrayant la masse des cupules aux masses pesées en 10.
12. Déterminer les efficacités d'extraction des molécules hydrophobes et hydrophiles à l'aide des équations 4 et 5 :

$$\text{Extraits secs (phase aqueuse/organique) (g)} = \frac{\text{Extraits secs de l'échantillon (g) x volume totale de la phase (mL)}}{\text{Volume de l'échantillon (mL)}} \quad (3.4)$$

$$\text{Extraction par masse d'extraits secs (\%)} = \frac{\text{Masse sèche des extraits totaux (g)}}{\text{Masse sèche initiale de la biomasse avant d'extraction (g)}} \times 100 \quad (3.5)$$

Annexe E : Protocole d'utilisation du lyophilisateur

MISE EN FONCTIONNEMENT

1. Mettre « On » les éléments haut et bas.
2. Fermer le « Vac Release » s'il est ouvert.
3. Vérifier que « Man » soit sélectionné dans la partie haute et appuyer sur « Run » pour mettre en route la réfrigération du porte échantillon.
4. Appuyer sur le bouton « Vacuum » puis sur « Purge » dans la partie basse pour allumer la pompe et la mettre sur la purge (attendre 15 minutes pour qu'elle soit chaude).
5. Appuyer sur le bouton « Man » dans la partie basse pour mettre en marche le refroidissement.
6. Attendre que la température indiquée en bas soit de -40 °C avant de passer à la suite.
7. Placer les échantillons congelés dans le compartiment du haut et fermer la porte.
8. Éteindre le bouton « Purge » pour mettre le vide dans le système.
9. S'assurer de l'étanchéité de la porte (les joints doivent se plaquer et le vide se faire en moins de 5 min). Vérifier qu'il y a un vide d'au moins 600 µbars à l'équilibre et que la température en bas soit inférieure à - 40 °C.

ARRÊT DU SYSTÈME

1. Appuyer sur le bouton « Purge » de la pompe pour ne plus faire le vide dans le système.
2. Ouvrir le « Vac Release ».
3. Attendre que le vide soit totalement cassé.
4. Appuyer sur le bouton « Man » de réfrigération pour l'éteindre.
5. Appuyer sur le bouton « Vacuum » pour éteindre la pompe.
6. Enlever le bouchon du tuyau de vidange et placer un récipient à la sortie du tuyau pour récupérer l'eau.
7. Ouvrir la porte du compartiment contenant les échantillons et les récupérer.
8. Appuyer sur « Run » dans la partie haute pour arrêter sa réfrigération.
9. Laisser dégivrer le serpentin (ne jamais mettre d'eau chaude !).
10. Sécher l'enceinte du serpentin à l'aide d'un papier absorbant avant toute remise en marche.

Annexe F : Protocole d'extraction ASTM D1105-96 - standard test method for preparation of extractive-free wood



Designation: D1105 – 96 (Reapproved 2013)

Technical Association of Pulp and Paper Industry
Standard Method T 12 cs-75

Standard Test Method for Preparation of Extractive-Free Wood¹

This standard is issued under the fixed designation D1105; the number immediately following the designation indicates the year of original adoption or, in the case of revision, the year of last revision. A number in parentheses indicates the year of last reapproval. A superscript epsilon (ϵ) indicates an editorial change since the last revision or reapproval.

1. Scope

1.1 This test method covers the preparation of extractive-free wood and is applicable to all North American woods. Extractives in wood consist of materials that are soluble in neutral solvents and that are not a part of the wood.

1.2 *This standard does not purport to address all of the safety concerns, if any, associated with its use. It is the responsibility of the user of this standard to establish appropriate safety and health practices and determine the applicability of regulatory limitations prior to use.* Specific precautionary statements are given in 4.2.

2. Significance and Use

2.1 Extractives are materials soluble in neutral solvents. They are not generally considered part of the wood polymer structure. These materials should be removed before any chemical analysis of the wood. Ethanol-benzene extracts waxes, fats, some resins, and portions of wood gums. Hot water extracts tannins, gums, sugars, starches, and coloring matter.

3. Apparatus

3.1 *Soxhlet Extraction Apparatus*—A glass Soxhlet extraction apparatus of suitable size for containing the sample, and fritted-glass or Alundum extraction thimbles of medium to coarse porosity, will be required. Bags of cotton cloth of fine weave and thoroughly washed, of a suitable size to fit within the body of the extractor, are also satisfactory in place of the thimbles. Alternatively, a small wad of cotton or a wire screen may be placed in the discharge tube of the extractor and the entire body of the extractor filled with the wood sample. A thin wire screen disk placed over the top of the material will prevent channeling by the dripping condensate.

4. Reagents

4.1 *Ethyl Alcohol (95 %).*

4.2 *Ethanol-Toluene Mixture*—Mix 1.0 absolute ethanol and 427 mL toluene. (**Warning**—Avoid inhalation of vapors and contact with skin.)

5. Sample

5.1 The sample shall consist of air-dry sawdust that has been reduced by means of a Wiley mill so as to pass through a 250- μ m sieve and be retained on a 180- μ m sieve.

6. Procedure

6.1 Place a suitable quantity of the sample in the extraction thimble, being certain that the wood does not extend above the level of the top of the siphon tube. Extract for 4 h with ethanol-toluene mixture in the Soxhlet extraction apparatus. Transfer the wood to a Büchner funnel, remove the excess solvent with suction, and wash the thimble and wood with alcohol to remove the toluene. Return the wood to the extractor and continue the extraction with ethanol for 4 h, or longer if necessary, until the ethanol siphons over colorless.

6.2 If the thimble is nearly full, a Gooch crucible of suitable size may be placed in the rim of the thimble to keep the sample together. Extraction with each solvent should be carried out at a rate of not less than four siphonings per hour. Remove the wood from the thimble, spread it out in a thin layer, and allow it to dry in the air until free of alcohol. Transfer the material to a 7.5-L Erlenmeyer or Florence flask and extract successively with three 1-L portions of distilled water, heating the flask with each change of water for 1 h in a hot-water bath at 100°C. The water should be at boiling temperature before the addition of the wood and the flask in the bath should be entirely surrounded by the boiling water. After the third extraction with water is complete, filter on a Büchner funnel, wash with 500 mL of boiling distilled water, and allow the extracted material to become thoroughly dry in the air.

7. Precision and Bias

7.1 Statements of precision and bias are not applicable to this method.

8. Keywords

8.1 extractive-free wood; wood

¹ This test method is under the jurisdiction of ASTM Committee D07 on Wood and is the direct responsibility of Subcommittee D07.01 on Fundamental Test Methods and Properties.

Current edition approved Aug. 1, 2013. Published September 2013. Originally approved in 1950. Last previous edition approved in 2007 as D1105 – 96 (2007). DOI: 10.1520/D1105-96R13.

Annexes

1. Pesée de la cartouche de cellulose avant et après extraction (après une nuit à 105 °C et 15 minutes dans un dessiccateur).
2. Pesée du ballon contenant le solvant d'extraction.
3. Pesée du sorgho introduit dans la cartouche : pourcentage d'humidité à déterminer pour calculer la masse sèche (équations 1 et 2).
4. Introduction du solvant ou du mélange de solvants dans le ballon d'extraction.
5. Réalisation de l'extraction grâce à la mise en ébullition du (des) solvant(s). L'extraction est arrêtée 30 minutes ou 4 h après le 1^{er} cycle.
6. Après l'extraction, récupération de la cartouche contenant le sorgho. L'ensemble est mis à sécher à 105 °C pour déterminer la masse sèche du bois après extraction → Quantification de la perte de masse du sorgho → Calcul du rendement d'extraction par perte de masse du sorgho (équation 3).
7. Si nécessaire, placer le ballon d'extraction au four à 105 °C pour déterminer la masse d'extraits qui adhèrent aux parois du ballon (en tenir compte pour le rendement d'extraction par masse d'extraits secs).
8. Dans le cas du mélange eau/DMC (80/20 v/v), centrifuger le mélange pour séparer les deux solvants (4500 G, 3 minutes).
9. Mesurer le volume récupéré de chaque solvant.
10. Pour l'eau : prélever un échantillon et le déposer dans une coupelle en aluminium pré-pesée pour congélation puis lyophilisation → Quantification de la masse des extraits secs aqueux totaux → Calcul du rendement d'extraction à l'eau par masse d'extraits secs (équation 5)
11. Pour les solvants organiques : prélever un volume connu et le déposer dans une coupelle en aluminium pré-pesée pour évaporation sous vide à 40 °C → Quantification de la masse d'extraits secs totaux obtenus pour le solvant organique → Calcul du rendement d'extraction au solvant organique par masse d'extraits secs (équation 5).

Annexe G : Procédure d'utilisation du réacteur « batch » avec recirculation de l'émulsion

*** Le réacteur peut être opéré par une personne seule.**

MISE EN FONCTIONNEMENT

- Fermer le bas du réacteur : mettre le joint et le tamis (Figure G.1). S'assurer que la vanne jaune (Figure 2) est fermée.
- Insérer la biomasse dans le corps du réacteur (Figure G.2).
- Former l'émulsion eau/DMC (80/20 v/v) (volume de 2 L dans un bécher recouvert de papier d'aluminium) : Sonde à ultrasons de 500 W
 - 5 minutes
 - Pas de pulsations
 - 95 % d'amplitude
- Noter la puissance utilisée par l'appareil (bouton « Energy »)
- Visser la sonde à la cellule de recirculation (Figure G.3).
- S'assurer que les connexions sont bien serrées.
- Remplir le corps du réacteur contenant la biomasse puis fermer le haut du réacteur (mettre le joint et le tamis) (Figure G.1 et G.2).
- Grâce à la pompe péristaltique, remplir le reste du système en aspirant le contenu du bécher via les tuyaux (s'assurer que les vannes sont dans la bonne position) (Figure G.4 et G.5).
- Lorsque le système est rempli, arrêter la pompe péristaltique et fermer les vannes d'alimentation (Figure G.6). Mesurer le volume restant dans le bécher.
- Mettre la pompe péristaltique au débit voulu et lancer la recirculation.

ARRÊT DU SYSTÈME

- Arrêter la pompe péristaltique.
- Ouvrir les vannes d'alimentation (placer le bécher au niveau des tuyaux pour récupérer le liquide qui pourrait en sortir).
- Placer le bécher sous le corps du réacteur et ouvrir la vanne jaune. Récupérer le liquide dans le bécher.
- Dévisser la sonde de la cellule de recirculation et récupérer le liquide présent.
- Ouvrir le haut du réacteur et récupérer le liquide présent dans le tuyau.
- Prendre un autre bécher. Ouvrir le bas du réacteur et récupérer la biomasse dans le bécher.
- À l'eau distillée, rincer les tamis et le corps du réacteur pour récupérer la totalité de la biomasse.
- Rincer la sonde à ultrasons avec l'eau distillée.

NETTOYAGE

- Rincer la sonde à ultrasons à l'eau distillée.
- Rincer le corps du réacteur à l'eau distillée.



Figure G.1 : Positionnement du joint et du tamis



Figure G.3 : Sonde vissée à la cellule de recirculation

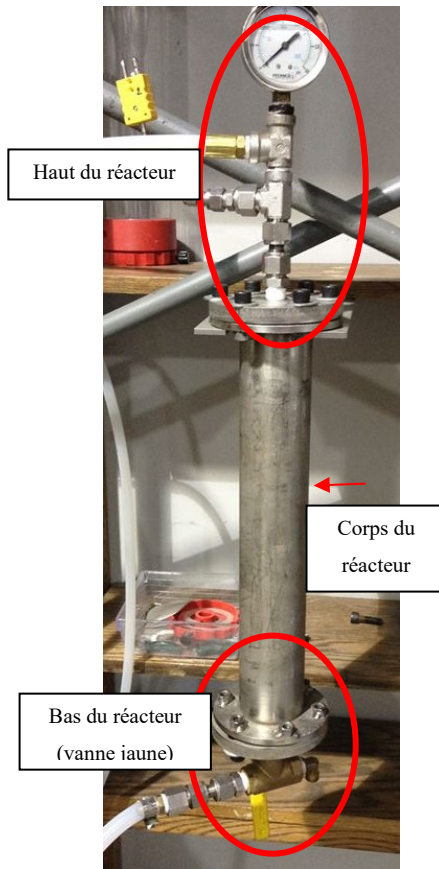


Figure G.2 : Corps du réacteur

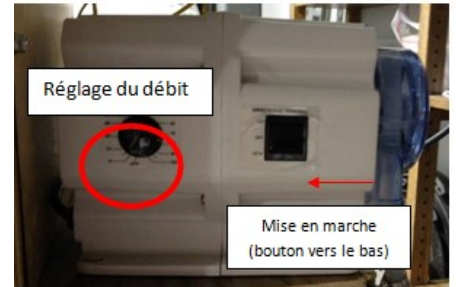


Figure G.4 : Sonde péristaltique

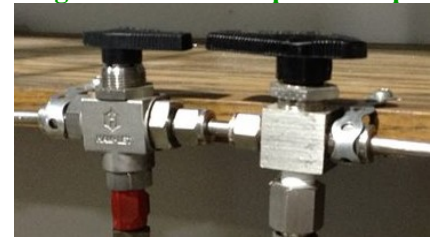


Figure G.5 : Vannes d'alimentation en position "ouverte" (pour le remplissage et le vidage du système)



Figure G.6 : Vannes d'alimentation ne position "fermée" (pendant la recirculation)

Annexe H : Procédure d'utilisation du réacteur « batch - piston »

*** Le réacteur peut être opéré par une personne seule.**

MISE EN FONCTIONNEMENT

- Connecter le bain refroidissant à la double paroi du réacteur (via les connecteurs « quick-connect ») et ouvrir la vanne pour permettre la circulation du refroidissant (Figure H.1).
- Allumer le bain refroidissant et l'ordinateur.
- Connecter le moteur, le thermocouple et le transducteur de pression (Figure H.2) au boîtier de commande.
- Sur l'ordinateur, dans le « Test Bénédicte – Raccourci » (Figure H.3), fixer la pression d'opération désirée ainsi que les limites de tolérance et le déplacement d'ajustement du piston (Figure H.4).
- Fixer les paramètres d'opération de la sonde à ultrasons : sonde de 750 W (Cole Parmer) :
 - Temps de fonctionnement (5-30 min)
 - Pulsations (Sans ou 5 sec « on »/ 1 sec « off »)
 - Amplitude (40 – 95 %)
- Descendre le piston jusqu'à la moitié du réacteur environ (en fonction du volume de solution utilisé).
- Insérer la biomasse, l'eau et le solvant dans le corps du réacteur.
- Fixer la tête du réacteur (vannes, thermocouple, jauge à pression) (Figure H.2) au corps du réacteur.
- Viser la sonde à ultrasons à la tête du réacteur.
- Purger l'air contenu dans le réacteur en ouvrant la vanne manuelle et en faisant monter manuellement le piston.
- Fermer la vanne manuelle lorsque tout l'air a été purgé.
- Démarrer la lecture des paramètres (Figure H.5)
- Entrer un nom de fichier et appuyer sur « Sauvegarder » (Figure H.6) pour enregistrer les données (création d'un fichier Excel).
- Mettre en fonctionnement la sonde à ultrasons.
- Noter la puissance utilisée par l'appareil à la fin de l'extraction (bouton « Energy »)

ARRÊT DU SYSTÈME

- Arrêter la sonde à ultrasons.
- Arrêter l'acquisition des données : bouton « Stop » de la Figure H.5.
- Descendre le piston pour baisser la pression interne via la boîte de dialogue de la Figure xiii. Vérifier que la pression interne est à 0 psig via la jauge à pression.
- Déconnecter le moteur, le thermocouple et le transducteur de pression. Déconnecter le bain refroidissant de la double paroi (connecteurs « quick-connect »).
- Dévisser la sonde à ultrasons.
- Retirer la tête du réacteur.
- Dans un bécher, verser le contenu du corps du réacteur (biomasse, eau, solvant).
- Au besoin, reconnecter le moteur et faire monter le piston (boîte de dialogue de la Figure H.7) pour récupérer la biomasse.

Annexes

- À l'eau distillée, rincer les tamis l'intérieur du corps du réacteur et la tête pour récupérer la totalité de la biomasse.
- Rincer la sonde à ultrasons avec l'eau distillée.

NETTOYAGE

- Rincer la sonde à ultrasons à l'eau distillée.
- Rincer le corps du réacteur à l'eau distillée.

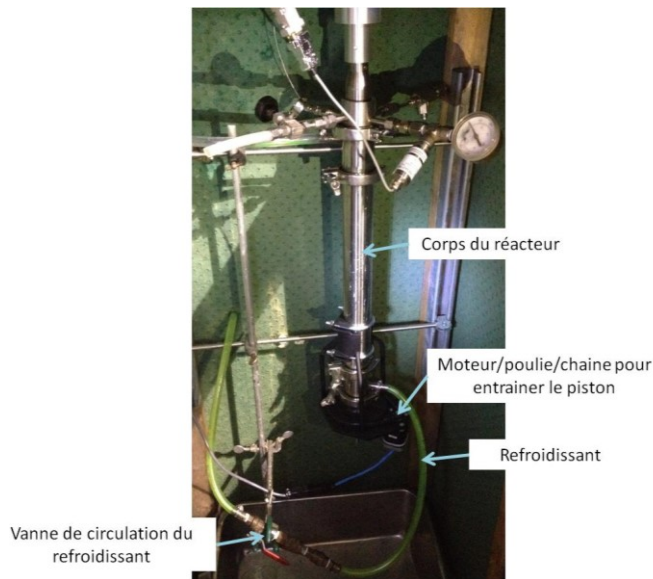


Figure H.1 : Réacteur « batch » d'extraction de biomasse

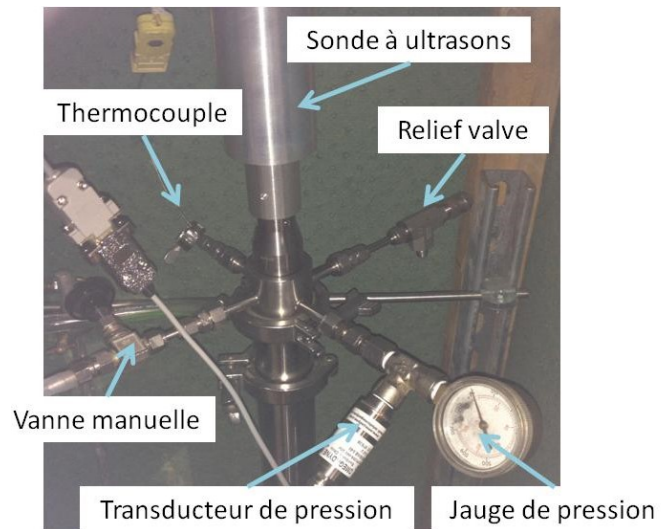


Figure H.2 : Tête du réacteur

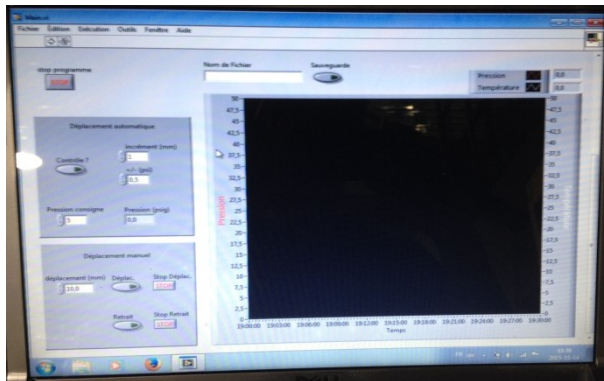


Figure H.3 : Aperçu de l'interface d'acquisition des données

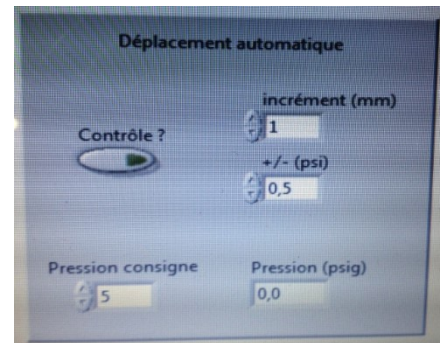


Figure H.4 : Paramètres de contrôle du moteur (pression d'opération, tolérance, déplacement du moteur)

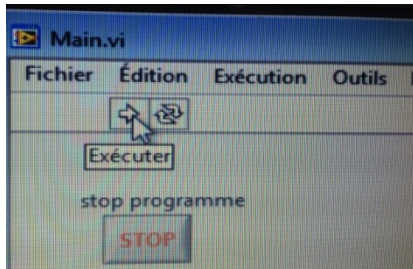


Figure H.5 : Démarrage de l'acquisition des données

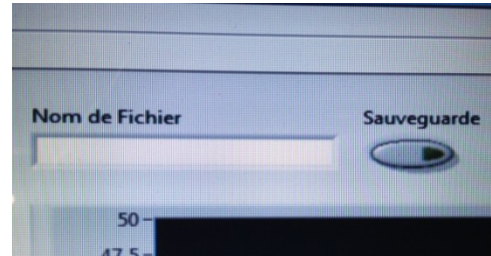


Figure H.6 : Nom de fichier à sauvegarder pour l'enregistrement des données

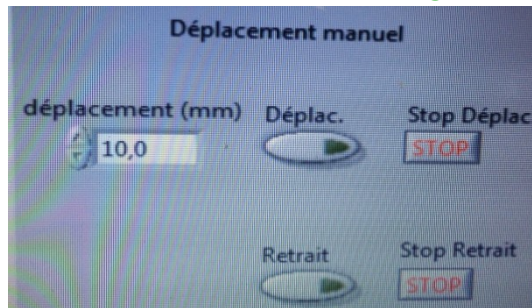


Figure H.7 : Contrôle du déplacement "manuel" du moteur

Annexe I : Surfaces de réponse pour les extractions en batch-piston avec le sorgho de 250-425 μm

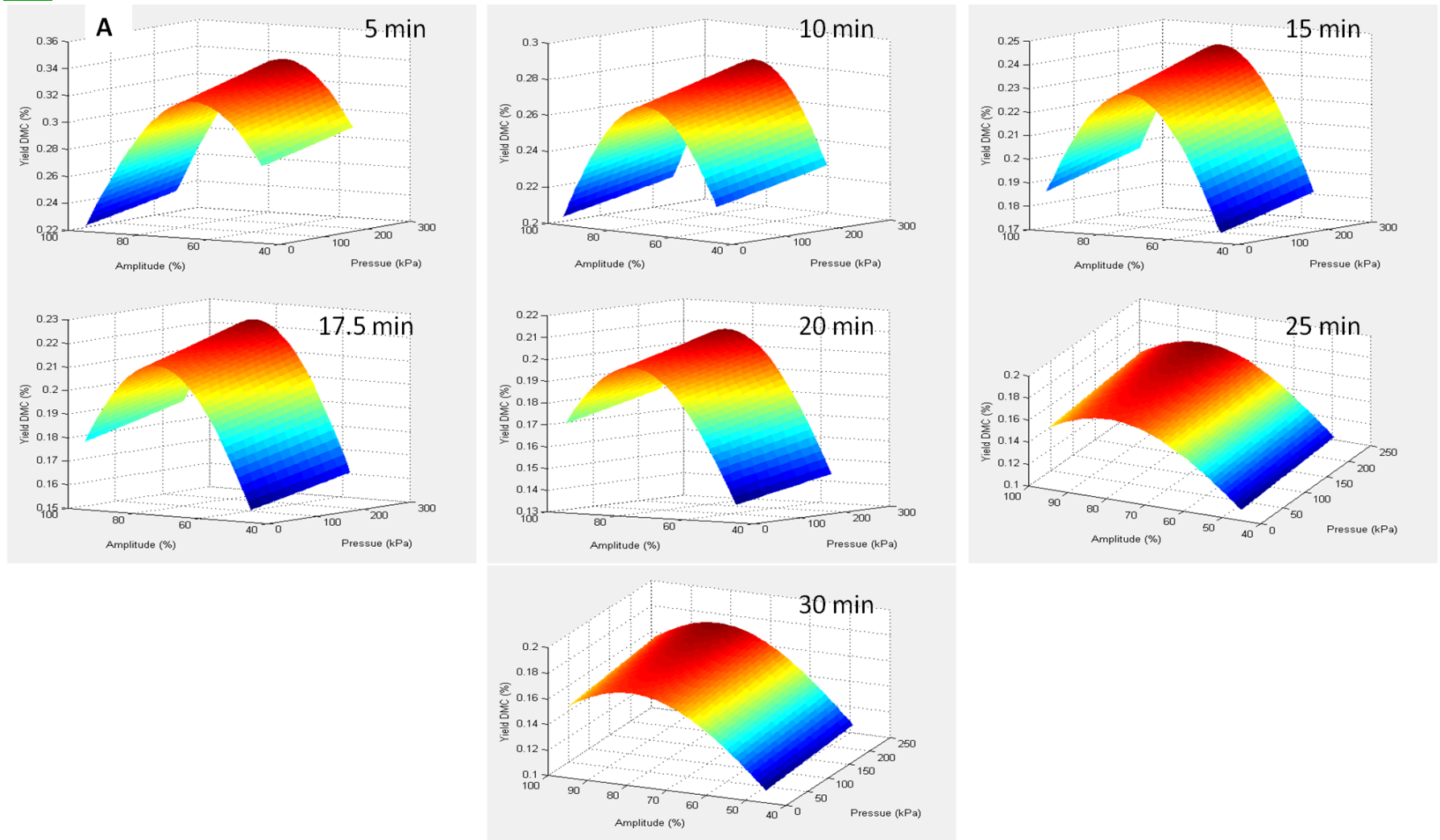


Figure I. 1 : Surfaces de réponse en fonction du temps, pour des particules de sorgho de 250-425 μm , pour les extraits dans le DMC

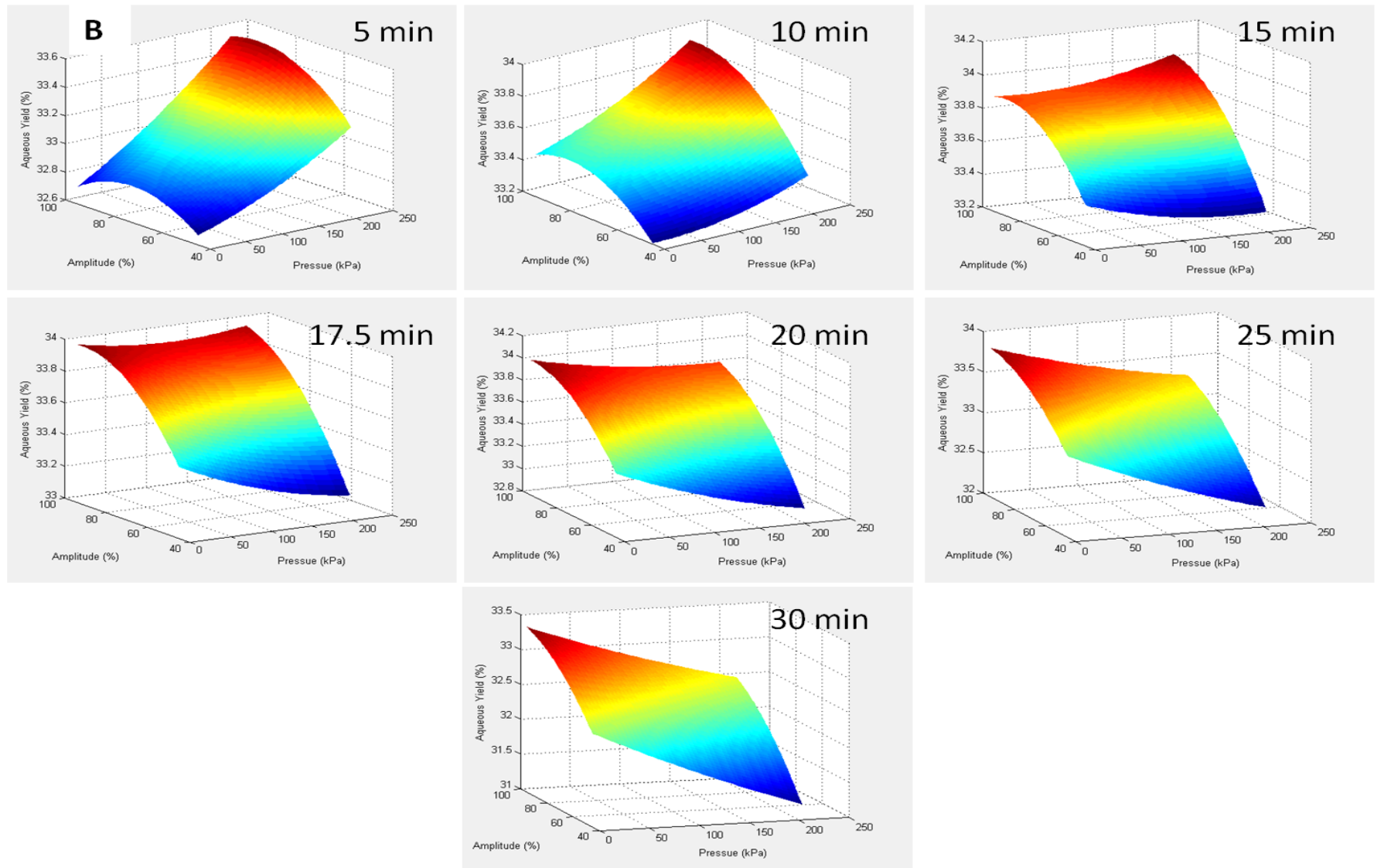


Figure I. 2 : Surfaces de réponse en fonction du temps, pour des particules de sorgho de 250-425 μ m, pour les extraits aqueux

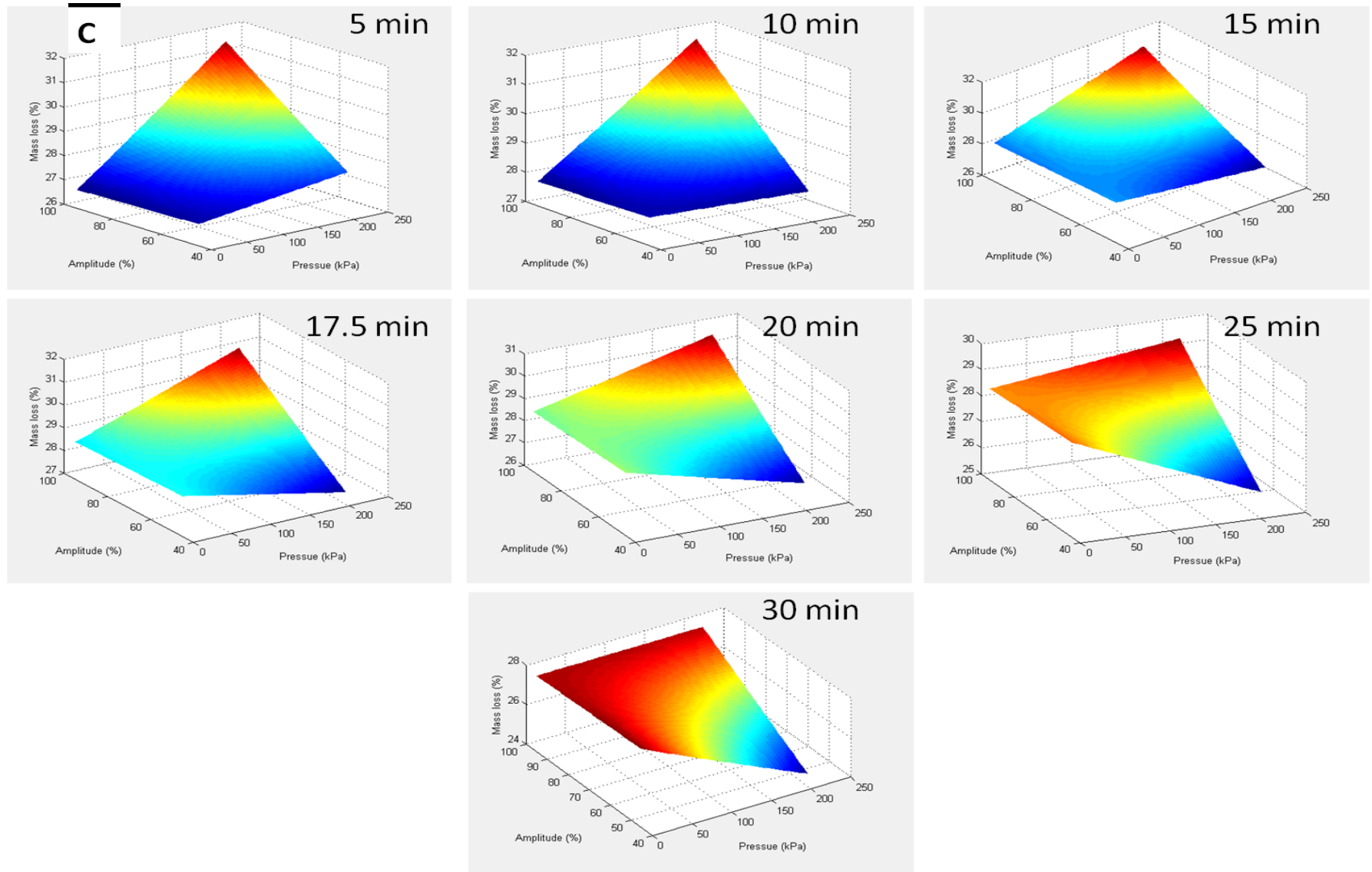


Figure I. 3 : Surfaces de réponse en fonction du temps, pour des particules de sorgho de 250-425 μ m, pour la perte de masse

Annexe J : Surface de réponse pour les extractions en batch-piston avec le sorgho brut

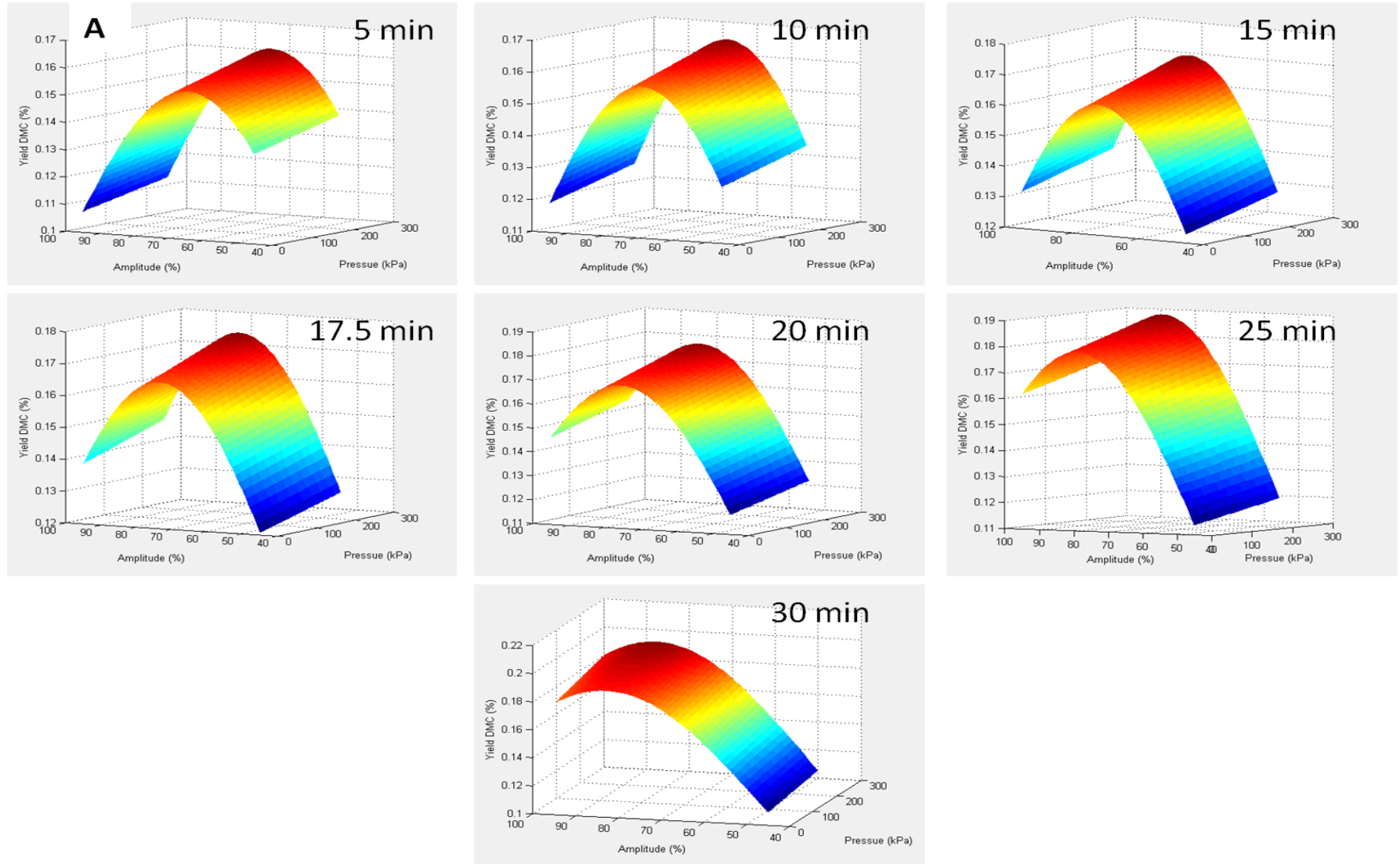


Figure J. 1 : Surfaces de réponse en fonction du temps, pour des particules de sorgho brutes, pour les extraits au DMC

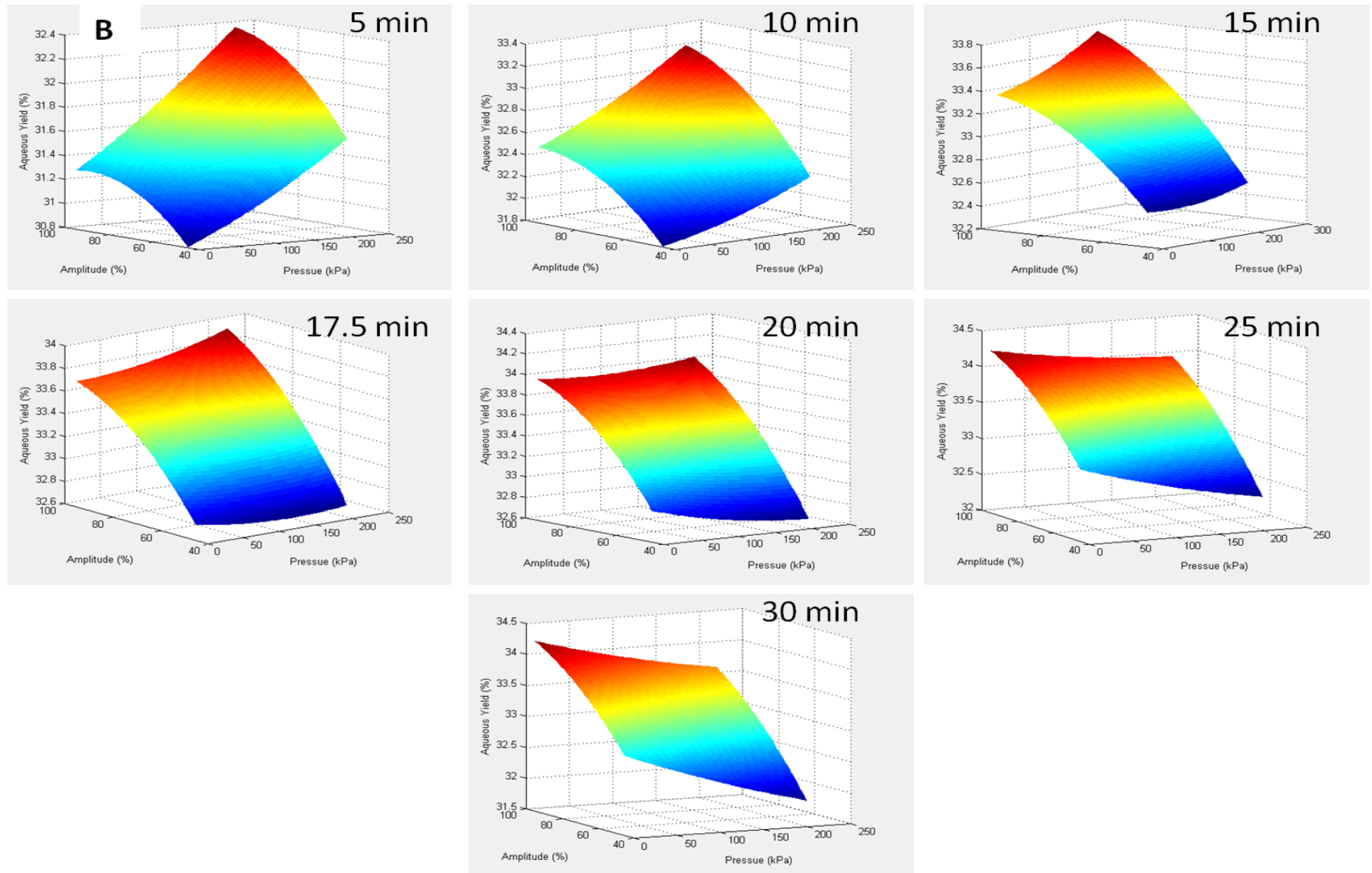


Figure J. 2 : Surfaces de réponse en fonction du temps, pour des particules de sorgho brutes, pour les extraits aqueux

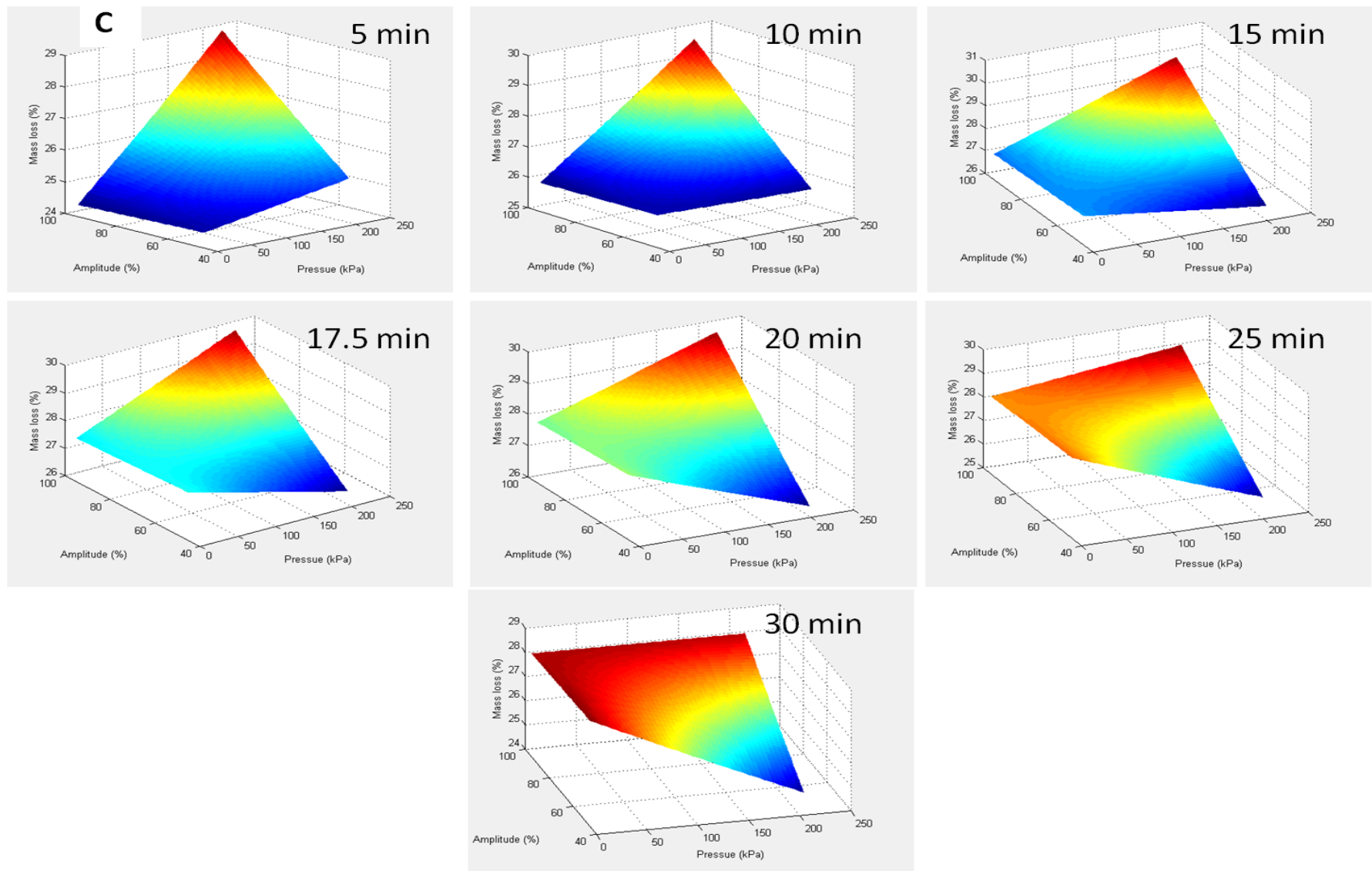


Figure J. 3 : Surfaces de réponse en fonction du temps, pour des particules de sorgho brutes, pour la perte de masse

BIBLIOGRAPHIE

- Ade-Omowaye, B.I.O., Angersbach, A., Taiwo, K.A., Knorr, D., (2001). Use of pulsed electric field pre-treatment to improve dehydration characteristics of plant based foods. *Trends in Food Science and Technology*, volume 12, numéro 8, p. 285–295.
- Ajila, C.M., Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., S. Godbout, S., Valéro, J.R. (2010). Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*, volume 31, numéro 3, p. 227–249.
- Alupului, A. (2012). Microwave extraction of active principles from medicinal plants. *U.P.B. Science Bulletin, Series B*, volume 74, numéro 2.
- Amyris Inc. (2013) *Integrated Biorefinery – Project summary*. [en ligne] URL : <http://www.osti.gov/scitech/servlets/purl/1122942/>
- Aresta, M., Dibenedetto, A., Dumeignil, F. (2012). *Biorefinery: From Biomass To Chemicals And Fuels, Chapitre 7.4 The BALI pretreatment and separation process*. n.p.: Berlin : De Gruyter, [en ligne] URL : <http://lib.myilibrary.com/Open.aspx?id=394038> Catalogue des bibliothèques UdeS, EBSCOhost (consulté le 18 Juillet 2016).
- ASTM (2013). Standard Test Method for Preparation of Extractive-Free Wood (D1105-96). [en ligne] URL: [http://www.astm.org/cgi-bin/resolver.cgi?D1105-96\(2013\)](http://www.astm.org/cgi-bin/resolver.cgi?D1105-96(2013))
- Atomer. *Formation physico-chimie : Constantes physico-chimiques de solvants usuels*. [en ligne] URL : <http://www.atomer.fr/1/1bcsu.html> (page consulté en mars 2016).
- Awika, J. M. et Rooney, L. W. (2004). Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, volume 65, numéro 9, p. 1199-1221.
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N, Omar, A.K.M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, volume 17, p. 426-436.
- Bahcegul, E., Apaydin, S., Haykir, N.I., Tatli, E., Bakir, U. (2012). Different ionic liquids favor different lignocellulosic biomass particle sizes during pretreatment to function efficiently. *Green Chemistry*, volume 14, p.1896-1903.
- Banat, F., Pal, P., Jwaied, N., Al-Rabadi, A. (2013). Extraction of Olive oil from olive cake using Soxhlet apparatus. *American Journal of Oil and Chemical Technologies*, volume 1, numéro 4, ISSN 2326-6589.
- Bandar, H., Hijazi, A., Rammal, H., Hachem, A., Saad, Z., Badran, B. (2013). Techniques for the extraction of bioactive compounds from Lebanese *Urtica dioica*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, p. 507-513.
- Batani, H. et Karimi, K. (2016). Biodiesel production from castor plant integrating ethanol production via a biorefinery approach. *Chemical Engineering Research and Design*, numéro 107, p. 4-12.

- Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N., Kumar, S. (2014). Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, volume 36, p. 91-106.
- Bennett, A.S., et Anex, R.P. (2009). Production, transportation and milling costs of sweet sorghum as a feedstock for centralized bioethanol production in the upper Midwest. *Bioresource Technology*, volume 100, p. 1595-1607.
- Bhanage, B. M., Fujitaa, S., Ikushima, Y., Arai, M. (2003). Transesterification of urea and ethylene glycol to ethylene carbonate as an important step for urea based dimethyl carbonate synthesis. *Green Chemistry*, volume 5, p. 429-432.
- Billa, E., Koullas, D. P., Monties, B. et Koukios, E. G. (1997). Structure and composition of sweet sorghum stalk components. *Industrial Crops and Products*, volume 6, numéro 3-4, p. 297-302.
- Biofuel. *Biofuels – Fuels for the future*. [en ligne] URL : <http://biofuel.org.uk/> (page consultée en août 2015).
- Biophyresearch. *La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier*. [en ligne] URL : <http://www.biophyresearch.com/technique-analyse/la-spectroscopie-infrarouge-a-transformee-de-fourier/> (page consultée en mai 2016).
- Bonaterra, G. A., Heinrich, E. U., Kelber, O., Weiser, D., Metz, J. et Kinscherf, R. (2010). Anti-inflammatory effects of the willow bark extract STW 33-I (Proaktiv®) in LPS-activated human monocytes and differentiated macrophages. *Phytomedicine*, volume 17, numéro 14, p. 1106-1113.
- Borredon M-E., Boureau E., Déglise X., Vaca-garcia C. « BOIS », *Encyclopædia Universalis*. [en ligne] URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/bois/> (page consultée en octobre 2014).
- Brandon Sutton, K. (2011). A Novozymes short report: Fermentation inhibitors. *Novozymes Bioenergy*. [en ligne]: URL : http://bioenergy.novozymes.com/Documents/Ferm_SR_Inhibitors.pdf
- Brochette, P. (1999). Émulsification - Élaboration et étude des émulsions. Dans *Techniques de l'ingénieur - Principes de formulation*, référence : J2150.
- Bryant, G. et Wolfe, J. (1987). Electromechanical stress produced in the plasma membranes of suspended cells by applied electrical fields. *Journal of Membrane Biology*, volume 96, numéro 2, p. 129-139.
- Budzianowski, W.M. et Postawa, K. (2016). Total Chain Integration of sustainable biorefinery systems. *Applied Energy* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.06.050>

- Canselier, J. P. et Poux, M. (2004). Procédés d'émulsification : Mécanismes de formation des émulsions. *Techniques de l'ingénieur Principes de formulation*, référence : J2152. Procédés d'émulsification : Techniques et appareillage. *Techniques de l'ingénieur Principes de formulation*, référence : J2153.
- Cárcel, J. A., García-Pérez, J. V., Benedito, J., Mulet, A. (2012). Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, volume 110, numéro 2, p. 200-207.
- Celzard, A., Fierro, V., Pizzi, A. (2012). Nouveaux matériaux poreux multifonctionnels dérivés du bois. *Techniques de l'ingénieur - Sciences et ingénierie du bois*, article : n4203, TIB571DUO.
- Chanterreau, J., Cruz, J., Ratnadass, A., Trouche, G., Fliedel, G. (2013). *Le sorgho*. Édition Quae, collection Agricultures tropicales en poche, 264p.
- Chemat, F. (2014). *Eco-extraction du végétal: Procédés innovants et solvants alternatifs*. Dunod, 322 p., p. 1-26 et 91-117.
- Chemat, F., Zill-e-Huma et Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, volume 18, numéro 4, p. 812-835.
- Chen, Y., Luo, H., Gao, A., Zhu, M. (2011). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) seed by response surface methodology and their structural characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, volume 12, p. 305-309.
- Cherubini, F. (2010). The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management*, volume 51, numéro 7, p. 1412-1421.
- Choquette, V. (2007). Les biocarburants au Québec, en route vers 2012. *InvestQuébec*, volume 14, numéro 1, p.6-7.
- Coker, A. (2012). Dimethyl Carbonate. Dans *Nexant ChemSystems*. [en ligne] URL : http://thinking.nexant.com/sites/default/files/report/field_attachment_abstract/201212/2012S12_abs_R1.pdf
- Combette, P., Roudil, D. et Despaux, G. (2001). Emulsion characterisation by focused ultrasonic waves. *Ultrasonics*, volume 39, numéro 5, p. 329-334.
- Corbin, C., Fidel, T., Leclerc, E.A., Barakzoy, E., Sagot, N., Falguières, A., Renouard, S.I., Blondeau, J.-P., Ferrod, C., Doussot, J., Lainé, E., Hano, C. (2015). Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, volume 26, p. 176-185.

- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N.A., Kumar, S. (2013). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*, *Arabian Journal of Chemistry*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>
- Deglise, X. et Donnot, A. (2004). Bois énergie. *Techniques de l'ingénieur – Nouvelles technologies, énergies renouvelables et stockage*, article : be8535, TIB594DUO.
- Delledonne, D., Rivetti, F. et Romano, U. (2001). Developments in the production and application of dimethylcarbonate. *Applied Catalysis A: General*, volume 221, numéro 1–2, p. 241-251.
- Devgun, M., Nanda, A., Ansari, S.H. (2012). Comparison of conventional and non conventional methods of extraction of heartwood of *Pterocarpus marsupium roxb.* *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, volume 69, numéro 3, p. 475-485
- DuPont. *OPTIMASH® Enzymes Enabling New Advancements in Production of Renewable Fuel*. [en ligne] URL : <http://www.dupont.com/products-and-services/industrial-biotechnology/advanced-biofuels/optimash-cellulosic-ethanol-enzymes-corn-fiber.html> (page consultée en juillet 2016).
- EcoFin (05 mai 2012). Du biodiesel à partir d'hybrides de sorgho sucrier. Dans *EcoFin*. [en ligne] URL : <http://www.agenceecofin.com/industrie/0505-4691-du-biodiesel-a-partir-d-hybrides-de-sorgho-sucrier> (page consultée en février 2016).
- El-Belghiti, K., Rabhi, Z., Vorobiev, E. (2005). Kinetic model of sugar diffusion from sugar beet tissue treated by pulsed electric field. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, volume 85, numéro 2, p213-218.
- Eudes, M. et Zanette, M. (2012). *Nanocelluloses et emballages alimentaires*. [en ligne] URL : <http://cerig.pagora.grenoble-inp.fr/memoire/2012/nanocellulose-emballage-alimentaire.htm>
- Gazanhes, C. et Jessel, M. (1970). Ultrasons. Dans *Techniques de l'ingénieur – Archives électroniques*, référence : e2690.
- Ghafoor K., Choi Y.H., Jeon J.Y., Jo I.H. (2009). Optimization of ultrasound- assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, volume 57, numéro 11, p. 4988-4994.
- Gil-Chavez, G.J., Villa, J.A., Ayala-Zavala, F., Heredia, J.B., Sepulveda, D., Yahia, E.M., Gonzalez-Aguilar, G.A. (2013). Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, volume 12, p. 5-23.
- Godin, B., Ghysel, F., Agneessens, R., Schmit, T., Gofflot, S., Lamaudière, S., Sinnaeve, G., Goffart, J-P., Gerin, P.A., Stilmant, D., Delcarte, J. (2010). Détermination de la cellulose,

- des hémicelluloses, de la lignine et des cendres dans diverses cultures lignocellulosiques dédiées à la production de bioéthanol de deuxième génération. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, numéro spécial 2, Volume 14, 549-560, [en ligne] URL : <http://popups.ulg.ac.be/1780-4507/index.php?id=6186>
- Grosso, C., Valentão, P., Ferreres, F., Andrade, P.B. (2015). Alternative and efficient extraction methods for marine-derived compounds. *Marine drugs*, volume 13, p. 3182-3230; [doi:10.3390/md13053182](https://doi.org/10.3390/md13053182)
- Halfadji, A., Touabet, A., Badjah-Hadj-Ahmed, A-Y. (2013). Comparison of Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and ultrasonic extraction for the determination of PCBs congeners in spiked soils by transformer oil (Askarel). *International journal of advanced engineering & technology*, volume 5, numéro 2, p. 63-75.
- Hielscher, T. (2005). Ultrasonic production of nano-size dispersions and emulsions. Dans *European Nano Systems Workshop - ENS 2005*, Paris, France
- Howgego, J. (2011). Chemistry world's round up of money and molecules. Dans *Royal Society of Chemistry - Chemistry World Blog*. [en ligne] URL: <http://prospect.rsc.org/blogs/cw/2011/08/03/chemistry-worlds-round-up-of-money-and-molecules-116/>
- Huang, H., Guo, X., Li, D., Liu, M., Wu, J. et Ren, H. (2011). Identification of crucial yeast inhibitors in bio-ethanol and improvement of fermentation at high pH and high total solids. *Bioresource technology*, volume 102, numéro 16, p. 7486-7493.
- Huet, M. (2015). *Valorisation hydrothermales de la liqueur noire à des fins énergétiques et de chimie verte*. Génie des Procédés. Université de Grenoble Alpes. [en ligne] URL : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01268144/document>
- ICM Inc. (2013). *Future Technology Pathways and Advanced Biofuels Opportunities*. Présentation faite à Omaha (Nebraska) lors du forum « Ethanol 2013: Emerging Issues Forum ». [en ligne] URL : <http://www.ne-ethanol.org/presentations/forum/2013/krissek.pdf>
- ICM Inc. (2016). Generation 1.5: Grain Fiber to Cellulosic Ethanol Technology™ [en ligne] URL : <http://www.icminc.com/products/generation-1-5.html> (page consultée en juillet 2016)
- IEA-ETSAP & IRENA (2013). *Production of bio-methanol : Technology brief*. [en ligne] https://www.irena.org/DocumentDownloads/Publications/IRENA-ETSAP%20Tech%20Brief%20I08%20Production_of_Bio-methanol.pdf
- Incedy, J., Lengyel, T., Ure, A.M. (1998). *Supercritical Fluid Chromatography and Extraction. Compendium of Analytical Nomenclature (Definitive Rules 1997)*, third ed. Blackwell Science.

- International Energy Agency (IEA). *Bioenergy*. [en ligne] URL : <https://www.iea.org/topics/renewables/subtopics/bioenergy/> (page consultée en août 2015)
- Kang, L. (2014). Biofuel Experiences in China - Governance and Market Development Updates. Présentation faite à Bruxelles dans le cadre de la sixième réunion des parties prenantes plénière du EBTP. [en ligne] <http://www.biofuelstp.eu/spm6/docs/liping-kang.pdf>
- Kaufmann, B. et Christen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction. *Phytochemical Analysis*, volume 13, numéro 2, p.105–113.
- Khoddami, A., Wilkes, M.A., Roberts, T.H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, volume 18, p. 2328–2375.
- Kim, M. et Day, D.F. (2011). Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, volume 38, p. 803-807.
- Koçar, G. et Civaş, N. (2013). An overview of biofuels from energy crops: Current status and future prospects. *Renewable and sustainable energy reviews*, volume 28, p.900-916.
- Krishnan M.S.K., Ho N.W.Y.H., Tsao G.T.T. (1999). Fermentation Kinetics of Ethanol Production from Glucose and Xylose by Recombinant *Saccharomyces* 1400(pLNH33). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, volume 77–79, p. 373-388.
- Labafzadeh S. R., Helminen K. J., Kilpeläinen I., King, A. W. T. (2015), Synthesis of Cellulose Methylcarbonate in Ionic Liquids using Dimethylcarbonate. *ChemSusChem*, volume 8, numéro 11, p. 77–81, [doi:10.1002/cssc.201402794](https://doi.org/10.1002/cssc.201402794)
- Laborde, J.-L., Bouyer, C., Caltagirone, J.-P., Gérard, A. (1998). Acoustic bubble cavitation at low frequencies. *Ultrasonics*, volume 36, numéro 1–5, p. 589-594.
- Lang, Q. et Wai, C.M. (2001). Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies— a practical review. *Talanta*, volume 53, numéro 4, p. 771–782.
- Latif, S. et Anwar, F. (2009). Physicochemical studies of hemp (*Cannabis sativa*) seed oil using enzyme-assisted cold-pressing. *European Journal of Lipid Science and Technology*, volume 111, numéro 10, p. 1042–1048.
- Lattes, A. (date inconnue). Les tensioactifs. Dans *Centre National de Recherches Scientifiques*. [en ligne] <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doschim/decouv/peau/tensio.html> (page consultée en novembre 2014).
- Lavoie, J.-M. and Stevanovic, T. (2007). Selective ultrasound-assisted extractions of lipophilic constituents from *Betula alleghaniensis* and *B. papyrifera* wood at low temperatures. *Phytochemical. Analysis*, volume 18, p. 291–299, [doi: 10.1002/pca.981](https://doi.org/10.1002/pca.981)

- Lavoie, J.-M., Chornet M., Chornet E. (2009). Biomass refineries: relationships between feedstock and conversion approach. *WIT Transactions on Ecology and the Environment - Energy and Sustainability II*, volume 121, p. 35-48.
- Lavoie, J.-M., Beauchet, R., Berberi, V., Chornet, M. (2011). Biorefining quasi homogeneous biomass via the Feedstock Impregnation Rapid and Sequential Steam Treatment. *Biofuel's engineering process technology*, Intech publishing, p. 685-715.
- Lavoine-Hanneguelle, S. (2012). *Method for extracting an odorous extract by an alternative solvent to conventional solvents*. Brevet WO 2012136908 A1, déposé par Charabot. [en ligne] URL : <https://www.google.com/patents/WO2012136908A1?cl=en>
- Levesque, A. (2014). *Le sorgho sucré, une plante aux multiples valorisations sources d'innovations en Haïti*. Ingénieur en Systèmes Agricoles et Agroalimentaires Durables pour le Sud, SupAgro Montpellier, France.
- Linde, M., Jakobsson, E.L., Galbe, M., Zacchi, G. (2007). Steam pretreatment of dilute H₂SO₄-impregnated wheat straw and SSF with low yeast and enzyme loadings for bioethanol production. *Biomass Bioenergy*, volume 32, p. 326–32.
- Luo, C., Brink, D. L., Blanch, H. W. (2002). Identification of potential fermentation inhibitors in conversion of hybrid poplar hydrolyzate to ethanol. *Biomass and Bioenergy*, volume 22, numéro 2, p. 125-138.
- Madson, P. W. (2012). Generation 1.5 Ethanol: The bridge to cellulosic biofuels. Dans *Ethanol Across America*. [en ligne] URL : http://www.cleanfuelsdc.org/pubs/documents/CFDCKatzenWP_0912_LR.pdf
- Mandal, V., Mohan, Y. et Hemalatha, S. (2007). Microwave assisted extraction - an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, volume 1, numéro 1, p. 7-18.
- MAPAQ (Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et de l'Alimentation du Québec). *Biocarburants et fourrage : Le sorgho sucré et le millet perlé sucré, des plantes à double usage*. [en ligne] URL : <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/md/RDinnovation/sciensationnel/sciensationnel7/sciensationnel6/Pages/Biocarburantsfourrage.aspx> (page consultée en mars 2015)
- Massey, A.R., Reddivari, L., Vanamala, J. (2014). The dermal layer of sweet sorghum (sorghum bicolor) stalk, a byproduct of biofuel production and source of unique 3-deoxyanthocyanidins, has more antiproliferative and proapoptotic activity than the pith in p53 Variants of HCT116 and colon cancer stem cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, volume 62, numéro14, p.3150-3159.
- Massey, A.R., Reddivarib, L., Radhakrishnanc, S., Charepallic, V., Hewagec, E.K.K., Ramakrishnac, V., Vanamala, J.K.P. (2016). Pro-apoptotic activity against cancer stem

- cells differs between different parts of sweet sorghum. *Journal of functional food*, volume 23, p. 601-613.
- Mohan D., Pittman Jr. C.U. and Steele P.H. (2006). Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: a critical review. *Energy Fuels*, volume 20, p. 848-889.
- Murugan, R., Parimelazhagan, T. (2014). Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn. – An *in vitro* approach. *Journal of King Saud University – Science*, volume 26, numéro 4, p. 267-275
- Nahrstedt, A., Schmidt, M., Jäggi, R., Metz, J. et Khayyal, M. (2007). Willow bark extract: The contribution of polyphenols to the overall effect. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, volume 157, numéro 13-14, p. 348-351.
- Naik, S.N., Goud, V.A., Rout, P.K., Dalai, A.K. (2010). Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Review*, volume 14, p. 578–597.
- Nait Sidi Ahmed, A. (2012). *Mise en place d'un procédé d'extraction et de pré-purification de molécules bioactives à partir d'une culture énergétique «Salix miyabeana SX67»*. Maitrise en génie chimique, Université de Sherbrooke, Canada.
- Ndiomu, D.P. et Simpson, C.F. (1988). Some applications of supercritical fluid extraction. *Analytica Chimica Acta*, volume 213, p. 237–243.
- Nichols, N. N., Sharma, L. N., Mowery, R. A., Chambliss, C. K., van Walsum, G. P., Dien, B. S., Iten, L. B. (2008). Fungal metabolism of fermentation inhibitors present in corn stover dilute acid hydrolysate. *Enzyme and microbial technology*, volume 42, numéro 7, p. 624-630.
- Nieto, A., Borrull, F., Pocurull, E., Marce, R.M. (2010). Pressurized liquid extraction: a useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge. *Trends in Analytical Chemistry*, volume 29, numéro 7, p.752–764.
- Niranjan, K. et Hanmoungjai, P. (2004). Enzyme-aided aqueous extraction. In: Dunford, N.T., Dunford, H.B. (Eds.), *Nutritionally Enhanced Edible Oil Processing*. AOCS Publishing.
- Ono Y. (1997). Dimethyl carbonate for environmentally benign reactions. *Catalysis Today*, volume 35, p.15-25.
- Pétrier, C.; Gondrexon, N.; Boldo, P. (2008). Ultrasons et sonochimie. Dans *Techniques de l'ingénieur - Chimie verte : optimisation des modes de séparation, d'activation et de synthèse*, référence : AF6310
- Porevsky, P.A., Gómez Ruiz, H., Hernández Garciadiego, L. (2014). Comparison of Soxhlet extraction, ultrasonic bath and focused microwave extraction techniques for the simultaneous extraction of PAH's and pesticides from sediment samples. *Scientia*

Chromatographica, volume 6, numéro 2, p. 124-138 ;
<http://dx.doi.org/10.4322/sc.2014.026>

Prix du baril. *Le cours officiel du baril de pétrole*. [en ligne] URL : <http://prixdubaril.com/cours-du-baril.php> (page consultée en mai 2016)

Ragauskas, A.J., Williams, C.K., Davison, B.H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C.A., Frederick, W.J., Hallett, J.P., Leak, D.J., Liotta, C.L., Mielenz, J.R., Murphy, R., Templer, R., Tschaplinski, T., (2006). The Path Forward for Biofuels and Biomaterials. *Science*, numéro 311, p. 484–489. [doi:10.1126/science.1114736](https://doi.org/10.1126/science.1114736)

Ramluckan, K., Moodley, K.G., Bux, F. (2014). An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the Soxhlet extraction method. *Fuel*, volume 116, p.103-108.

Randjelović, P., Veljković, S., Stojiljković, N., Sokolović, D., Ilić, I., Laketić, D., Randjelović, D., Randjelović, N. (2015). The beneficial biological properties of Salicylic Acid. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, volume 32, numéro 4, p. 259-265. [doi :10.1515/afmnai-2015-0026](https://doi.org/10.1515/afmnai-2015-0026)

Reverchon, E. et De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *The Journal of Supercritical Fluids*, volume 38, numéro 2, p. 146-166.

Rezic I., Krstic D., Bokic Lj., (2008). Ultrasonic extraction of resins from an historic textile, *Ultrasonics Sonochemistry* , volume 15, p. 21–24.

RMT Biomasse (2009). *Le sorgho*. [en ligne] URL : http://www.biomasse-territoire.info/fileadmin/site_bioter/documents_bioter/RMT_biomasse/511-Fiche_culture_sorgho.pdf

Rostagno, M.A., Palma, M., Barroso, C.G. (2003). Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography*, volume 1012, numéro 2, p. 119–128.

Royer, M. (2012) *La chimie verte : une nouvelle filière de développement économique*. [en lign] URL : http://www.quebecwoodexport.com/images/stories/pdf/chimie_verte_royer.pdf

Saballos, A. (2008). Development and utilization of sorghum as a bioenergy crop. Dans *Genetic Improvement of Bioenergy Crops*, édition Vermerris, Springer Science and Business Media, LLC, New York, USA, p. 211-248.

Saidi, A. (2011). La biomasse lignocellulosique et la bioénergie. *Bulletin de nouvelles du Centre de Développement des Énergies Renouvelables*, volume 21, page consultée en avril 2015. [en ligne] URL : http://www.cder.dz/vlib/bulletin/odf/bulletin_021_03.pdf

Sanchez, A., Magaña, G., Partida, M.I., Sanchez, S. (2016). Bi-dimensional sustainability analysis of a multi-feed biorefinery design for biofuels co-production from lignocellulosic

- residues and agro-industrial wates. *Chemical Engineering Research and Design*, numéro 107, p.195-217.
- Sališová, M., Toma, Š. et Mason, T. J. (1997). Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*. *Ultrasonics sonochemistry*, volume 4, numéro 2, p. 131-134.
- Schaffer, R.E. et Gourley, L.M. (1982). Sorghum as an energy source. Dans *Sorghum in The Eighties*, House LR, Mughogho LK, Peack JM (eds). ICRISAT: Patancheru, Inde; 477-783.
- Scheller, H.V. et Ulvskov, P. (2010). Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology*, volume 61, numéro 1, p. 263-289.
- Segneanu, A-E., Cziple, F., Vlaza, P., Sfirloaga, P., Grozescu, I., Gherman, V.D. (2013). *Biomass now – Sustainable growth and use, Chapitre 15 : Biomass extraction methods*, InTech, p. 389-400. <http://dx.doi.org/10.5772/55338>
- Seibel, W., Kim Chung, O., Weipert, D. et Park, S. (2006). Cereals. Dans *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. [en ligne] URL: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14356007.a06_093.pub2/pdf
- Sharma, S., Ameta, S.C., Sharpe, V.K. (2010). *Use of Dimethyl Carbonate (DMC) as methylating agent under microwave irradiation - A green chemical approach*. Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science 2010, volume 2, WCECS 2010, October 20-22, 2010, San Francisco, USA.
- Shoemaker, C.E., Bransby, D.I., (2010). *The role of sorghum as a bioenergy feedstock*. Dans: Sustainable alternative fuel feedstock opportunities, challenges and roadmaps for six U.S. regions, Proceedings of the sustainable feedstocks for advance biofuels workshop, Atlanta, GA. 28-30 septembre. Soil and Water Conservation Society, Ankeny, IA. Editors: Braun, R., Karlen, D., Johnson, D., p. 149-159.
- Sihvonen, M., Jarvenpaa, E., Hietaniemi, V., Huopalahti, R., (1999). Advances in supercritical carbon dioxide technologies. *Trends in Food Science and Technology*, volume 10, numéro 6-7, p. 217-222.
- Silva, L.V., Nelson, D.L., Drummond, M.F.B., Dufosse, L., Gloria, M.B.A., (2005) Comparison of hydrodistillation methods for the deodorization of turmeric. *Food Research International*, volume 38, numéro 8-9, p. 1087-1096.
- Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A. (2016). Biological pretreatment of lignocellulosic biomass – An overview. *Bioresource Technology*, volume 199, p. 76-82.
- Singh, V., Moreau, R.A., Hicks, K.B. (2003). Yield and phytostérols composition of oil extracted from grain sorghum and its wet-milled fractions. *Cereal Chemistry*, volume 80, numéro 2, p. 126-129.

- Sjöström, E. (1981). Chapter 1 - The structure of wood & Chapter 5 - Extractives. Dans *Wood Chemistry - Fundamentals and Applications* (Second Edition). Academic Press, San Diego, p. 1-20 et 90-108.
- Société chimique de France. Lignine. Dans *Société chimique de France*. [en ligne] URL : <http://www.societechimiquedefrance.fr/produit-du-jour/lignine.html> (page consultée en mars 2015).
- Société Française d'acoustique (2010). *Le livre blanc de l'acoustique en France en 2010 – Chapitre 3 - Ultrasons*, édition SFA, p.76-82.
- Soxhlet, F. Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. *Dingler's Polytech.* J 1879, 232, 461–465.
- Sun, Y. et Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology*, volume 83, numéro 1, p. 1-11.
- Taylor, J.R.N., Belton, P.S. (2002). Sorghum. Dans *Pseudocereals and Less Common Cereals: Grain properties and Utilization Potential*. Springer, Berlin, p. 25–91.
- Toepfl, S., Mathys, A., Heinz, V., Knorr, D. (2006). Review: potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficiency and environmentally friendly food processing. *Food Review International*, volume 22, numéro 4, p.405–423.
- Trendafilova, A., Chaney, C., Todorova, M. (2010). Ultrasound-assisted extraction of alantolactone and isoalantolactone from *Inula helenium* roots. *Pharmacognosy Magazine*, volume 6, numéro 23, p.234-237. [doi: 10.4103/0973-1296.66942](https://doi.org/10.4103/0973-1296.66942).
- Tundo P. and Selva M. (2002). The Chemistry of Dimethyl Carbonate. *Accounts Of Chemical Research*, volume 35, issue 0, p.706-716.
- Université de Technologies de Compiègne *Les agents émulsifiants*. [en ligne] URL : <http://www.utc.fr/~cochet/BT10JPB/additifs5.pdf> (page consultée en novembre 2014).
- Université des Sciences et Technologie de Lille. *La cellulose - Structure de la molécule*. [en ligne] URL : http://biochim-agro.univ-lille1.fr/polysaccharides/co/Contenu_1_1.html (page consultée en avril 2015).
- Vankar, P.S., (2004). Essential oils and fragrances from natural sources. *Resonance*, volume 9, numéro 4, p. 30–41.
- Veillet, S. (2010). *Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation - Chapitre 4 : Enrichissement exogène de l'huile d'olive par ultrasons*. Docteur en Sciences, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L. et Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, volume 9, numéro 2, p. 161-169.

- Wang, L. et Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, volume 17, numéro 6, p. 300-312.
- Wang, W., Yuan, T., Wang, K., Cui, B., Dai, Y., (2012). Combination of biological pretreatment with liquid hot water pretreatment to enhance enzymatic hydrolysis of *Populus tomentosa*. *Bioresource Technology*, volume 107, p. 282–286.
- Wertz, J. (2011). Les hémicelluloses. *Document ValBiom – Gembloux Agro-Bio Tech*, Université de Liège.
- Ying, Z., Han, X., Li, J. (2011). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food chemistry*, volume 127, numéro 3, p. 1273-1279
- Yu, X., Gouyo, T., Grimi, N., Bals, O., Vorobiev, E. (2016). Ultrasound enhanced aqueous extraction from rapeseed green biomass for polyphenol and protein valorization. *Compte-rendu Chimie*, volume 19, p. 766-777
- Zhang, H., Yang, X. et Wang, Y. (2011). Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: Current status and future directions. *Trends in Food Science & Technology*, volume 22, numéro 12, p. 672-688.
- Zhang, Z., Zhang, G., Xu, G., Li, W., Li, C. (2016). Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. *International Journal Of Hydrogen Energy*, volume 41, numéro 21, p.9153-9158.
- Zosel, K., (1964). Brevet allemand, 1493,190.

