

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

PRÉTRAITEMENT D'UNE BIOMASSE DE SAULE ISSUE D'UN PROCESSUS
DE PHYTOREMÉDIATION POUR L'OBTENTION DE
COPRODUITS À HAUTE VALEUR AJOUTÉE

MÉMOIRE PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
KEVIN LAJOIE

NOVEMBRE 2020

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mes directeurs de recherche, Simon Barnabé et Frédéric Pitre, pour leur temps de formation, leur savoir-faire, leurs connaissances et leurs compétences. Ils m'ont formé de manière à ce que je sois un professionnel de recherche exemplaire lors de mon entrée sur le marché du travail. Entouré de leurs collègues professionnels compétents, j'ai été accompagné de toute part dans mon cheminement grâce à leur équipe. Grâce à vous, cette formation aux cycles supérieurs m'a apporté plusieurs outils insoupçonnés qui me seront d'une aide très précieuse sur le marché de travail.

Je remercie tout spécialement mon très cher ami, Marc Lépine. Les cycles supérieurs sont jalonnés d'étapes, parfois, plus difficiles à surmonter que d'autres. Tu as été présent dans les bons comme dans les mauvais moments et c'est ce qui aura fait toute la différence dans mon parcours académique. Tu as été la personne qui m'a aidé à mieux me connaître et tout ceci vaut de l'or.

Je remercie aussi tous les professionnels de recherche, les professeurs et les techniciens de laboratoire autant à Trois-Rivières qu'à Montréal pour leur patience et leur ouverture. J'ai sollicité votre aide à plusieurs reprises et, parfois, dans des moments inopportun. Malgré tout, vous vous êtes toujours montrés patients, professionnels et ouverts. Ceci est un gage de votre passion et de votre engagement envers votre travail et cela rassure énormément certains étudiants comme moi.

RÉSUMÉ

La phytoremédiation est une technique utilisant des végétaux pour dépolluer des compartiments environnementaux tels que l'eau, le sol et l'air. Cependant, ce procédé reste marginal et il est nécessaire de développer des voies de valorisation de la biomasse générée afin d'augmenter la valeur ajoutée de ce type de traitement. Dans ce contexte, une plantation de saules (*Salix miyabeana SX67*) irriguée avec des eaux usées primaires a été utilisée comme alternative aux stations d'épuration classiques, sur des communautés de taille réduite (~1 000 habitants). Les effluents efficacement traités par la plantation, riches en azote et phosphore, ont permis d'augmenter la croissance et par conséquent la biomasse de ces saules. L'évaluation de l'impact des effluents municipaux sur la composition structurale (extractibles, hémicelluloses, cellulose, lignines) des saules a été réalisée. Une baisse significative des extractibles pour les saules irrigués avec des effluents municipaux a été observée, alors que les teneurs en hémicelluloses, en cellulose et en lignines n'ont pas démontré de différences significatives. Différentes conditions de prétraitement ont été évaluées dans le but de maximiser les rendements de fractionnement et ainsi produire des molécules d'intérêt. Un procédé d'extraction et de fractionnement par solvant pressurisé a été utilisé à l'aide d'un extracteur ASE350. Les temps de résidence de la biomasse (30, 60 et 120 minutes) ont été étudiés. Les meilleurs résultats en autohydrolyse ont été obtenus avec 120 minutes de traitement (160 °C, 1500-1700 psi, 100 % eau). Dans ces conditions, nous avons pu observer à la fois une augmentation du taux d'extraction des hémicelluloses ainsi que du glucose et du xylose, tous deux issus de leur hydrolyse. Ces travaux préliminaires nous ont permis d'isoler quatre molécules présentant un fort intérêt économique (xylose, glucose, 5-hydroxyméthylfurfural et furfural), et dont les applications industrielles sont nombreuses et variées (biocarburants, agroalimentaire, industrie pharmaceutique...). Ce projet a démontré la possibilité de valoriser la biomasse produite dans un contexte de phytoremédiation.

Mots-clés : phytoremédiation, prétraitements, saules, analyses de composition, coproduits à valeur ajoutée, xylose, HMF, furfural

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ii
RÉSUMÉ.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	xi
LISTE DES SYMBOLES.....	xiii
MISE EN CONTEXTE	1
CHAPITRE I	
REVUE DE LA LITTÉRATURE	3
1.1 Phytoremédiation.....	3
1.2 Remédiation des eaux usées	5
1.3 Bioraffinage	6
1.4 Prétraitements	9
1.4.1 Techniques mécaniques	11
1.4.2 Techniques physiques	11
1.4.3 Techniques chimiques.....	13
1.4.4 Techniques physico-chimiques.....	15
1.4.5 Techniques biologiques	16
1.5 Composantes structurales du bois.....	17
1.5.1 Extractibles	20
1.5.2 Hémicelluloses.....	21
1.5.3 Lignines	23
1.5.4 Cellulose	23
1.6 Molécules d'intérêt et coproduits à haute valeur ajoutée	24
1.7 But et objectifs	26
1.8 Hypothèses.....	26
1.9 Objectifs spécifiques.....	27

CHAPITRE II	
MATÉRIELS ET MÉTHODES	28
2.1 Dispositif expérimental sur le terrain	28
2.2 Échantillonnage et conditionnement de la biomasse de saule	30
2.3 Analyses de la composition des échantillons de la biomasse de saule	31
2.3.1 Méthode du NREL.....	31
2.3.2 Lignines	31
2.3.3 Hémicelluloses et cellulose.....	32
2.4 Prétraitements	32
2.4.1 Extraction des extractibles	32
2.4.2 Cuisson à l'eau chaude	32
2.4.3 Cuisson à l'hydroxyde de sodium (NaOH).....	33
2.5 Analyses des coproduits	33
2.5.1 Sucres réducteurs	33
2.5.2 HMF/Furfural.....	34
2.5.3 Précipitation des lignines extraites	34
2.6 Statistiques.....	35
CHAPITRE III	
RÉSULTATS.....	36
3.1 Impact des traitements	36
3.2 Analyses de composition	37
3.2.1 Extractibles	37
3.2.2 Hémicelluloses.....	38
3.2.3 Cellulose	39
3.2.4 Lignines	40
3.3 Prétraitement : Autohydrolyse.....	41
3.3.1 Biomasse traitée (fraction solide)	43
3.3.2 Hydrolysats (fraction liquide).....	51
3.4 Prétraitement : Cuisson NaOH	57
3.4.1 Hydrolysats	58

CHAPITRE IV	
DISCUSSIONS	62
4.1 Impact des traitements	62
4.2 Analyses de composition de la biomasse brute	63
4.3 Prétraitement : Autohydrolyse.....	65
4.3.1 Hydrolysats	67
4.4 Prétraitement : Cuisson NaOH	69
4.5 Retour sur les hypothèses	71
CONCLUSION.....	72
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	73
ANNEXE	
COMPLÉMENTS D'INFORMATION	88

LISTE DES TABLEAUX

Tableau		Page
1.1	Composition typique de la biomasse (Base sèche)	19
1.2	Constituants principaux de la biomasse lignocellulosique et leurs applications.....	25
2.1	Caractérisation de l'eau potable et de l'affluent de la plantation (Lachapelle-Trouillard, 2017)	29
4.1	Composition brute de saule selon le cultivar	63

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	Représentation schématique des mécanismes de phytoremédiation (Alchimia, 2016)	3
1.2	Processus utilisés et produits obtenus lors du bioraffinage d'une biomasse forestière (Ressources naturelles Canada, 2018).....	7
1.3	Logistique et transformation, étape par étape, du bioraffinage de la matière première.....	8
1.4	Représentation schématique des prétraitements à ce jour (Mussatto et Dragone, 2016).....	10
1.5	Organisation (échelle macro à échelle moléculaire) du bois (adaptée de Harrington [1998], citée de Dang [2016]).....	18
1.6	Composantes moléculaires du bois (Association forestière du sud du Québec, 2020)	18
1.7	Exemples d'extractibles présents dans la biomasse de saule	20
1.8	Principales chaînes d'hémicelluloses retrouvées dans les feuillus tels que le saule.....	22
1.9	Monomères de lignines (à partir de la gauche : Alcool <i>p</i> -coumarylique, coniférylique et sinapylque).....	23
2.1	Organisation des parcelles expérimentales sur le site de St-Roch-de-L'Achigan (vue aérienne, pas à l'échelle)	28
3.1	Rendements de la biomasse des deux années de croissance des saules soumis à différents traitements d'irrigation (Source : Ahmed Jerbi [Jerbi <i>et al.</i> , 2020])	36
3.2	Teneurs en extractibles dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation	37
3.3	Teneurs en sucres hémicellulosiques dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation	38
3.4	Teneurs en glucane dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation.....	39

3.5	Teneurs en lignines solubles dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation	40
3.6	Teneurs en lignines insolubles dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation	41
3.7	Perte de masse à la suite de l'autohydrolyse selon le temps de résidence (30, 60, 120 minutes) dans le four.....	42
3.8	Teneurs en extractibles retirés avant l'autohydrolyse à l'eau	43
3.9	Teneurs en xylane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	44
3.10	Teneurs en galactane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	45
3.11	Teneurs en arabinane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	46
3.12	Teneurs en mannane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon le temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	47
3.13	Teneurs en glucane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	48
3.14	Teneurs en lignines solubles dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	49
3.15	Teneurs en lignines insolubles dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four	50
3.16	Teneurs en xylose dans les hydrolysats à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	52
3.17	Teneurs en glucose dans les hydrolysats à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	53
3.18	Teneurs en furfural dans les hydrolysats à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	55

3.19	Teneurs en HMF dans les hydrolysats à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.....	56
3.20	Biomasse post-prétraitement (après l'extraction des extractibles, l'autohydrolyse à l'eau pendant 120 minutes et l'hydrolyse couplée au catalyseur NaOH) selon trois concentrations (1,2; 2,5 et 5,2 %)	57
3.21	Teneurs massiques en lignines récupérées dans les hydrolysats à la suite de l'hydrolyse couplée au catalyseur NaOH selon trois concentrations (1,2; 2,5 et 5,2 %).....	59
3.22	Spectres infrarouges de lignines récupérées provenant des liqueurs noires (hydrolysats) à une concentration de 5,2 % en NaOH	60

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

ACC	Arséniate de cuivre
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
ASE350	<i>Accelerated Solvant Extractor model 350</i>
ATP	Adénosine triphosphate
CE	Conductivité électrique
CEPROCQ	Centre d'études des procédés chimiques du Québec
CO ₂	Dioxyde de carbone
D0	Dose « Eau potable »
D1	Dose 1 « Eaux usées primaires »
D2	Dose 2 « Eaux usées primaires »
DBO ₅	Demande biologique en oxygène à 5 jours
DCO	Demande chimique en oxygène
DCOr	Demande chimique en oxygène filtrée
FEPTEU	Fonds pour l'eau potable et le traitement des eaux usées
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
HMF	5 – Hydroxyméthylfurfural
HPLC-RID	<i>High Performance Liquid Chromatography – Refractive Index Detector</i>
IR	Infrarouge
IRBV	Institut de recherche en biologie végétale
MES	Matières en suspension
MIES	Matières inorganiques en suspension
MVES	Matières volatiles en suspension

N	Azote
NaOH	Hydroxyde de sodium
NH ₃	Ammoniac
NH ₄	Ammoniaque totale
N _{org}	Azote organique
NO _x	Nitrites et nitrates
NREL	<i>National Renewable Energy Laboratory</i>
N _T	Azote total
NTK	Azote total Kjeldahl
o-PO ₄	Orthophosphates
P	Phosphore
PCP	Pentachlorophénol
pH	Potentiel hydrogène
PSCR	Plantation de saules à croissance rapide
P _T	Phosphore total
RCF	<i>Relative centrifugal field</i>
RPM	<i>Rotation per minute</i>
S _U	Demande chimique en oxygène soluble et colloïdal non biodégradable
t	Tonne
UQTR	Université du Québec à Trois-Rivières
UV-Vis	Lumière ultraviolette et visible
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
X _{DCO}	Demande chimique en oxygène particulaire totale

LISTE DES SYMBOLES

α	Alpha
% m/m	% Masse sur masse ou g par 100 g
% m/v	% Masse sur volume ou g par 100 mL
°C	Degré Celsius
cm ⁻¹	Par centimètre
dS/m	Décisiemens par mètre
g	Gramme
h	Heure
kg N ha ⁻¹ an ⁻¹	Kilogramme d'azote par hectare par année
kg P ha ⁻¹ an ⁻¹	Kilogramme de phosphore par hectare par année
L/j	Litre par jour
m	Mètre
m ²	Mètre carré
mg	Milligramme
mg/L	Milligramme par litre
min	Minute
mL	Millilitre
mm	Millimètre
mm/jour	Millimètre par jour
MPa	Mégapascal
nm	Nanomètre
mg/kg	Milligramme par kilogramme
psi	<i>Per square inch</i>

t de biomasse/ha	Tonne de biomasse par hectare
t.ha ⁻¹ année ⁻¹	Tonne par hectare par année
µL	Microlitre
µm	Micromètre

MISE EN CONTEXTE

En janvier 2014, le gouvernement du Québec exécutait son nouveau *Règlement sur les ouvrages municipaux d'assainissement des eaux usées* afin de redonner à la population québécoise des cours d'eau en santé (Ministère de l'Environnement et Lutte contre les changements climatiques, 2013). Visant à accélérer les investissements municipaux à court terme dans le renouvellement ou la mise en place d'ouvrages municipaux à l'aide d'une enveloppe totalisant 663,8 millions de dollars, le Ministère des Affaires municipales et Habitation annonçaient le Fonds pour l'eau potable et le traitement des eaux usées (FEPTEU) en 2016 (Ministère des Affaires municipales et Habitats, 2016). En 2018 au Québec, la Fondation Rivières rapportait que 93 municipalités composées de 1 000 habitants n'avaient toujours pas d'ouvrages municipaux pour traiter leurs eaux usées (Fondation Rivières, 2018). Faute d'infrastructures adéquates, pour ces municipalités, les eaux usées ne sont pas ou peu traitées, voire directement déversées dans l'environnement (Robillard, 2018). Cette situation entraîne ainsi des impacts environnemental et sanitaire importants en raison, entre autres, de la matière organique en décomposition, d'éléments nutritifs (P, N, etc.) et des agents pathogènes (virus, bactéries, etc.) (Environnement et ressources naturelles, 2014). Il apparaît ainsi urgent et crucial de développer des solutions à moindre coût, faciles à mettre en œuvre, et ce, dans des délais réduits.

Pour ces raisons, une plantation expérimentale de saules à croissance rapide a été mise en place à Saint-Roch-de-L'Achigan par l'équipe de l'Institut de recherche en biologie végétale (IRBV). Cette plantation visait, dans un premier temps, à établir les dimensions et les paramètres d'opération d'un procédé plus vert de traitement d'eaux usées primaires municipales à l'aide d'une plantation de saules à croissance rapide (PSCR) dans un climat québécois.

Au-delà de la faisabilité de telles infrastructures pour des communautés allant jusqu'à 800 habitants (Lachapelle-Trouillard, 2017), cette étude a permis de mettre en

lumière l'influence de la nature de l'effluent sur le développement de la biomasse de saules. Comme le rapporte Jerbi *et al.* (2020), la biomasse produite à l'aide d'eaux usées primaires, chargées en éléments nutritifs (N et P), était deux fois plus importante que celle provenant des saules irrigués naturellement.

Cette augmentation significative de biomasse permet l'ouverture de voies possibles de valorisation à commencer par la bioénergie.

Bien que très populaire, la production de bioénergie à partir de biomasse est un procédé peu compétitif, d'un point de vue économique, et carboneutre. Dans l'idéal, il serait pertinent d'encourager une carbonégativité, processus déjà engagé avec l'utilisation de plantes pour dépolluer des effluents en remplacement d'installation en béton (et donc génératrices de CO₂). Ainsi, la valorisation de cette biomasse devrait passer 1) par l'extraction de molécules d'intérêt et 2) par une transformation de ses composantes structurales en coproduits à haute valeur ajoutée. En utilisant le concept du bioraffinage, ces molécules et ces coproduits permettraient de développer de nouveaux marchés plus écoresponsables dans des secteurs comme les matériaux et l'industrie chimique.

CHAPITRE I

REVUE DE LA LITTÉRATURE

1.1 Phytoremédiation

La phytoremédiation est un processus de décontamination d'une matrice, c'est-à-dire le sol, l'air ou l'eau, par les plantes et les micro-organismes associés (Pilon-Smits, 2005). Elle s'effectue par des mécanismes d'extraction, de stabilisation, de dégradation, de volatilisation ou de stimulation.

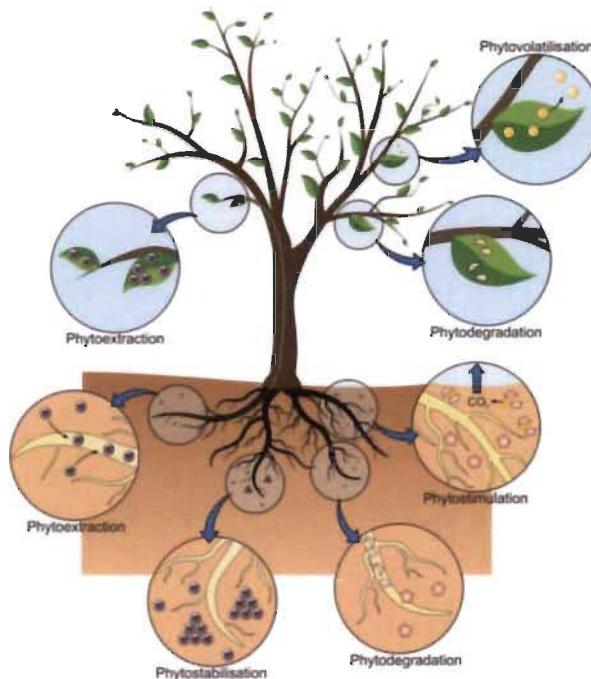


Figure 1.1 Représentation schématique des mécanismes de phytoremédiation (Alchimia, 2016).

L'extraction consiste à séquestrer les polluants plutôt de type inorganique (métaux, N, P, etc.) dans les tissus de la plante. La stabilisation permet de fixer les polluants (métaux principalement) dans le sol, via le complexe argilohumique pour limiter le

lessivage de ces derniers. La dégradation renvoie à la métabolisation des polluants (composées organiques, N et P) par les plantes. La volatilisation des polluants (métaux et composés organiques) s'effectue par évapotranspiration à la suite de leur métabolisation dans la plante. Enfin, la stimulation, ou rhizodégradation, est un processus de dégradation et de métabolisation des polluants par les micro-organismes vivants dans l'environnement immédiat des plantes. (Ansari *et al.*, 2016; Pilon-Smits, 2005; Sumiahadi et Acar, 2018).

Ces mécanismes de décontamination sont assurés par plusieurs espèces de plantes et les saules (*Salix sp*) sont souvent utilisés (ADIT, 2006; Rock *et al.*, 2000). Une revue de la littérature a mis en lumière la capacité des saules à extraire les métaux lourds comme le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le chrome (Cr) et l'arsenic (As) (Abdelsalam *et al.*, 2019; Ansari *et al.*, 2016). Les polluants peuvent être de nature inorganique, mais aussi organique comme les huiles, les solvants, les produits pétroliers, les peintures, les teintures et les pesticides (Pilon-smits, 2005; Société québécoise de phytotechnologie, 2016).

Depuis quelques années, plusieurs équipes se penchent sur les capacités qu'ont les saules à gérer leur exposition à des molécules organiques. D'après la revue d'Azzarello *et al.* (2011), le saule stimule la remédiation des contaminants chlorés, des hydrocarbures aromatiques polycycliques ainsi que des hydrocarbures pétroliers. Plus récemment, l'équipe de Sharma *et al.* (2020) rapporte qu'en situation hydroponique le saule extrait de manière significative des substances perfluoroalkyle, des polluants organiques persistants. Frédette *et al.* (2019) ont démontré à l'échelle du mésocosme que le saule parvient à concentrer des agents de conservation du bois tels que le pentachlorophénol (PCP) et l'arséniate de cuivre chromé (ACC).

En raison de ces caractéristiques, certaines équipes s'intéressent, depuis quelques années, au traitement des eaux usées en utilisant des plantations de saules à croissance rapide.

1.2 Remédiation des eaux usées

Les saules ont la capacité d'emmagasiner certains métaux comme le zinc, le cadmium et le cuivre, mais aussi de tirer profit des concentrations élevées en azote et phosphore dans ces eaux usées. Agissant comme des fertilisants, l'absorption de ces éléments (N et P) a pour conséquence d'augmenter la biomasse totale de l'espèce végétale utilisée (Aronsson *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2019; Guidi Nissim *et al.*, 2015; Jerbi, 2014; Jerbi *et al.*, 2015; Koenig et Trémolières, 2018; Shi *et al.*, 2015; Urbaniak *et al.*, 2017; Vasudevan *et al.*, 2019; Wyrwicka et Urbaniak, 2018).

Plusieurs équipes s'intéressent à l'utilisation des eaux usées comme source d'azote et de phosphore pour des plantations de saules (Aronsson *et al.*, 2000, 2014; Aronsson et Bergström, 2001; Dimitriou et Aronsson, 2004, 2005; Dimitriou et Rosenqvist, 2011; Guidi Nissim *et al.*, 2015; Hasselgren, 1998; Holm et Heinsoo, 2013; Jerbi *et al.*, 2015; Khurelbaatar *et al.*, 2017; Lachapelle-T. *et al.*, 2019; Rosenqvist et Dawson, 2005). En 2008, Jerbi et al. (2015) s'est penché sur une première évaluation de l'apport hydrique maximal d'eaux usées secondaires pouvant être filtrées par les saules et, en parallèle, la concentration maximale en azote et phosphore pouvant être captée par les saules. L'équipe a mis en place un dispositif organisé en 4 blocs, contenant 350 saules, avec 2 conditions (irrigué ou irrigué + fertilisé) selon 4 doses d'eaux usées. Situé dans la municipalité de St-Roch-de-L'Achigan, ce dispositif a permis, en 2009 et 2010, d'observer une augmentation significative de la biomasse totale au-dessus du sol ainsi qu'une diminution significative de la biomasse racinaire lorsque l'apport hydrique augmentait. L'enrichissement en N et P des eaux usées n'a pas eu d'impacts importants sur la biomasse.

Pour le même dispositif, Guidi Nissim *et al.* (2015) a évalué l'efficacité des saules à recycler les eaux usées secondaires selon différentes doses. Des analyses de l'eau souterraine (sous les racines des saules) et d'autres de la biomasse totale aérienne des saules ont permis d'évaluer le potentiel phytoremédiant des saules avec des eaux usées secondaires. Les principales observations ont été une baisse significative des différentes formes d'azote et de phosphore dans les eaux souterraines par rapport à leurs

concentrations dans les eaux usées ainsi qu'une augmentation significative de la biomasse aérienne.

À la suite de ces évaluations, un deuxième projet a été mis en place. Le principe général de ce projet s'appuie sur les travaux de Jerbi *et al.* (2015). Cependant, les eaux usées sont primaires, c'est-à-dire que les eaux usées ont seulement subi les étapes de dégrillage et de décantation, et leurs doses ont été ajustées en fonction de la charge en azote et phosphore. Toujours dans la municipalité de St-Roch-de-L'Achigan, 2 doses d'eaux usées primaires (D2 et D3), une dose « Contrôle » (D0) et eau potable (D1) représentées par 3 blocs d'une superficie de 108 m² ont fait l'objet de plusieurs suivis. Ces suivis sont associés à la matière en suspension (MES), l'azote (N), le phosphore (P), la demande chimique en oxygène (DCO), etc. La principale conclusion est la démonstration de l'efficacité de la plantation de saules à traiter les eaux usées primaires dans le respect des normes environnementales.

Jerbi et al. (2020) rapportent que la charge en azote et phosphore a eu un impact significatif sur ces saules. La biomasse totale des saules irrigués avec les eaux usées primaires (D1 et D2) a démontré une augmentation d'un facteur allant jusqu'à 2, et ce, pour deux années consécutives. L'irrigation de saules avec une dose, correspondant à 15 mm/jour (D2), permet d'obtenir pas moins de 40 tonnes de biomasse à l'hectare. Cette augmentation significative de la biomasse permet l'ouverture de voies possible de valorisation en passant par les techniques, le savoir-faire et la connaissance attrayant le domaine du bioraffinage.

1.3 Bioraffinage

Le bioraffinage, par définition, est une série de procédés industriels pour transformer une matière ligneuse (Cherubini, 2010; Ministère des Ressources naturelles et de la Faune, 2009). En pratique, cette matière, ligneuse ou non ligneuse, peut être de nature agricole (cultures dédiées et résidus), forestière, industrielle et ménagère (résidus de scierie, boue d'épuration, etc.) ou encore d'origine aquatique (algues) (Cherubini,

2010). La filière du bioraffinage est axée sur la production, par des procédés industriels, de produits chimiques et autres matériaux en remplacement de ceux issus de la pétrochimie, à partir d'une biomasse donnée (Figure 1.2). Elle porte également sur la production de produits à haute valeur ajoutée à base de cellulose, par exemple pour l'industrie pharmaceutique (Mussatto, 2016).

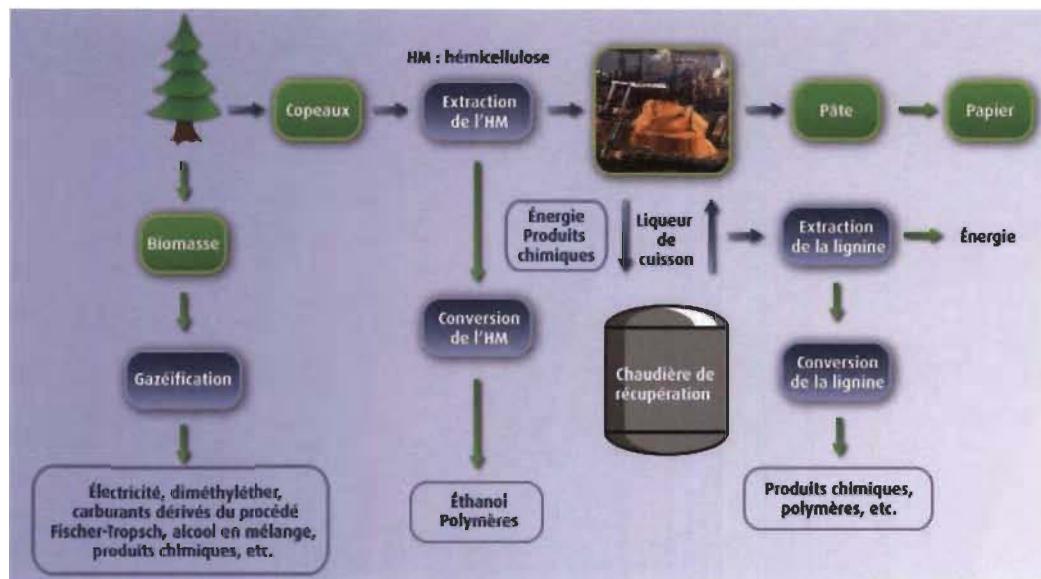


Figure 1.2 Processus utilisés et produits obtenus lors du bioraffinage d'une biomasse forestière (Ressources naturelles Canada, 2018).

À titre d'exemple, la biomasse forestière, comme illustrée ci-haut, subit différentes étapes industrielles pour produire plusieurs produits chimiques commerciaux comme des pâtes et papiers, des polymères, des produits chimiques et plusieurs formes d'énergie.

Afin d'avoir ces divers composés, la logistique du bioraffinage passe par trois grandes étapes : l'approvisionnement et la manutention de la biomasse, le conditionnement et la conversion (Wendt et Zhao, 2020).

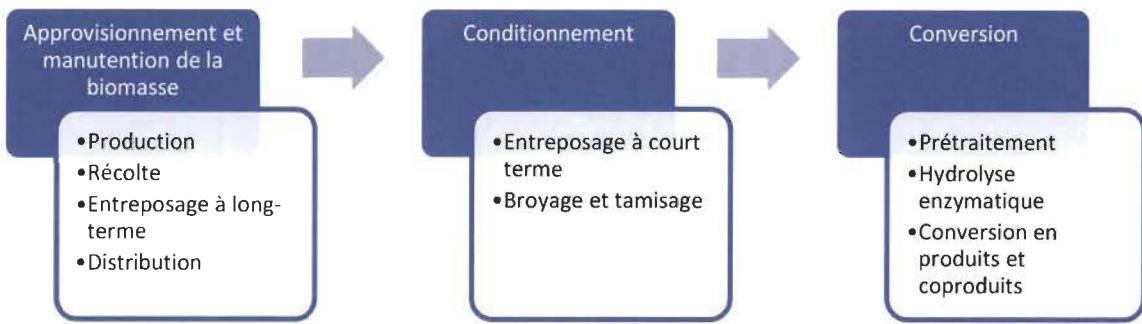


Figure 1.3 Logistique et transformation, étape par étape, du bioraffinage de la matière première.

L’approvisionnement et la manutention de la biomasse passent par les étapes de production, de récolte, d’entreposage et de distribution. Afin de conserver l’intégrité de la biomasse, celle-ci est entreposée dans différentes conditions avec ou sans amendements. D’après la revue de Wendt et Zhao (2020), la biomasse agricole est généralement conservée dans des conditions sèches (c.-à-d. balles agricoles) ou humides (i.e. ensilage). Toutefois, ces conditions permettent tout de même une dégradation de la biomasse par voie bactérienne ou fongique. Pour ces raisons, l’amendement bactérien, acide ou basique de la biomasse est parfois nécessaire. D’après Wang et Zhang (2013), l’approvisionnement et la manutention de la biomasse lignocellulosique sont adaptés selon le produit désiré et le consommateur final.

Le conditionnement de la biomasse passe inévitablement par un entreposage à court terme ainsi qu’un broyage suivi d’un tamisage dans certains cas (Wendt et Zhao, 2020). Pour la biomasse lignocellulosique, elle doit être concassée afin de continuer vers des procédés de conversion. Les procédés industriels n’admettent pas l’intégralité de la biomasse sans cette étape (Wang et Zhang, 2013).

La conversion consiste en un fractionnement et une transformation de la biomasse. Le prétraitement, qui a pour objectif de fractionner la biomasse, contribue à faciliter la séparation partielle ou totale des quatre composantes de la biomasse : les extractibles, les hémicelluloses, les lignines et la cellulose (Mussatto et Dragone, 2016). Une fois ce

fractionnement effectué, l'hydrolyse enzymatique de la cellulose, une des multiples méthodes possibles, permet de libérer les monomères de glucose pour leur conversion en produits (Baruah *et al.*, 2018).

1.4 Prétraitements

Le prétraitement de la biomasse est complexe en raison de la variété des techniques utilisables selon la nature de la biomasse. Comme illustré à la figure suivante, les techniques de prétraitement ont été divisées en cinq catégories représentant leur principe fondamental. Chaque technique a ses avantages et ses inconvénients et peut être pertinente pour une biomasse bien spécifique plutôt qu'une autre (Kumari et Singh, 2018).

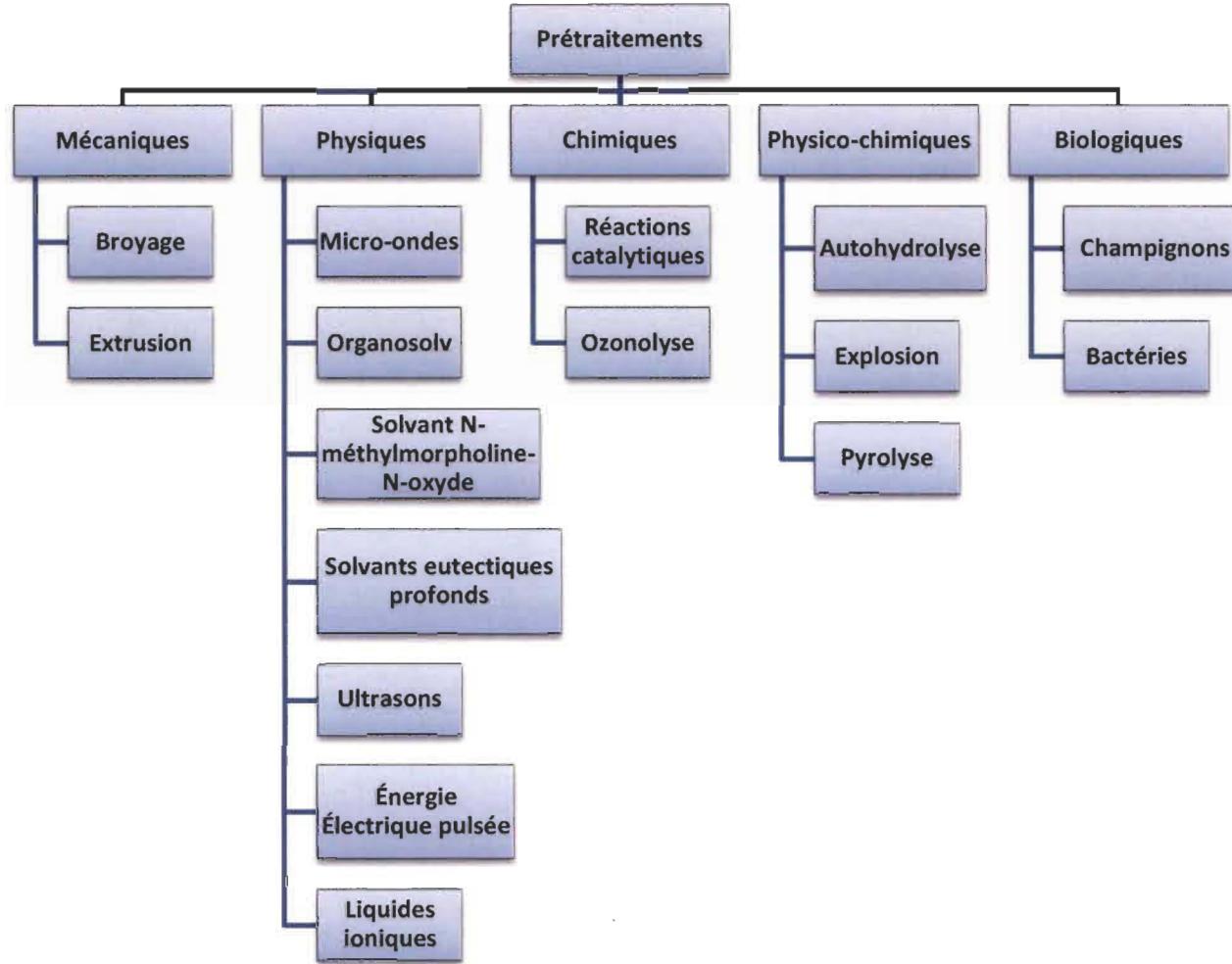


Figure 1.4 Représentation schématique des prétraitements – à ce jour (Mussatto et Dragone, 2016).

Dans les techniques de prétraitement, on retrouve plusieurs catégories de fractionnement, c'est-à-dire mécanique, physique, chimique, physico-chimique ainsi que biologique (Tomás-Pejó *et al.*, 2011). Ici, les techniques ont été classées selon leur principe intrinsèque à savoir comment elles prétraitent la biomasse.

1.4.1 Techniques mécaniques

Dans les techniques mécaniques, on retrouve notamment le broyage et l'extrusion (Baruah *et al.*, 2018; Mussatto et Dragone, 2016). Le principe général des techniques mécaniques repose sur la réduction de la granulométrie soit par l'utilisation de broyeur à marteau, à billes, etc. ou par le frottement des barillets lors d'une extrusion (Kumar et Sharma, 2017). Ces techniques augmentent la surface de contact de la biomasse pour les étapes de prétraitement suivantes (Mussatto et Dragone, 2016). Cependant, ces techniques sont énergivores et présentent une digestibilité enzymatique limitée (Moiceanu *et al.*, 2019; Rajendran *et al.*, 2018). De plus, l'extrusion se prête davantage aux herbes qu'au bois (Soltanian *et al.*, 2020). Cependant, plus spécifiquement aux saules, Han *et al.* (2020) ont déterminé des paramètres de prétraitement en présence de solvants par extrusion pour augmenter la digestibilité enzymatique de la cellulose.

1.4.2 Techniques physiques

Parmi les techniques physiques, on retrouve les micro-ondes, l'organosolv, le solvant *N*-méthylmorpholine-*N*-oxyde, les solvants eutectiques profonds, les ultrasons, l'énergie électrique pulsée et les liquides ioniques.

1.4.2.1 Micro-ondes

Ooshima *et al.* (1984) et Azuma *et al.* (1984) sont parmi les premiers à réaliser des prétraitements aux micro-ondes avec de la biomasse lignocellulosique. Le principe des micro-ondes s'appuie sur la variation des dipôles instantanés des molécules structurales de la biomasse (Aguilar-Reynosa *et al.*, 2017). Cette variation entraîne alors une

élévation de la température du milieu très rapidement sans former d'importantes quantités de produits de dégradation de la biomasse (Mussatto et Dragone, 2016). Bien que les micro-ondes permettent une élévation rapide de la température et qu'ils demandent peu d'énergie, leur mise à l'échelle est très difficile et ils doivent être couplés à une deuxième technique pour la délignification (Rajendran *et al.*, 2018). Jusqu'à maintenant, les micro-ondes ont été peu étudiées avec le saule. Tarves *et al.* (2017) rapporte un comportement différent de la biomasse lors d'une pyrolyse chauffée par micro-onde par rapport à une pyrolyse conventionnelle.

1.4.2.2 Organosolv/*N*-méthylmorpholine-*N*-oxyde

L'organosolv utilise un mélange de plusieurs solvants organiques (méthanol, acétone, éthanol, butanol, éthylène glycol, acide formique et acide acétique) pour dissoudre les structures de la biomasse (Borand et Karaosmanoğlu, 2018; Brosse *et al.*, 2019; Xu et Huang, 2014; Zhao *et al.*, 2009). Il a été classé, ici, dans la catégorie physique, puisque son principe repose uniquement sur la dissolution des composantes selon leurs affinités avec les différents solvants organiques. Il va de même pour le *N*-méthylmorpholine-*N*-oxyde ainsi que les liquides ioniques (mélange de sels aromatiques), puisqu'ils ont la faculté respectivement de solubiliser la cellulose ou des lignines de la biomasse (Bhaskar Reddy *et al.*, 2019; Millati *et al.*, 2020; Mussatto et Dragone, 2016). Toutefois, leur principal désavantage est de séparer par la suite les différentes composantes. De plus, le coût de ces solvants est très élevé (Soltanian *et al.*, 2020). À ce jour, Huijgen *et al.* (2011) semble être une des seules équipes à s'être penché sur cette méthode de prétraitement avec le saule. Les liquides ioniques et le solvant N-oxyde de N-méthylmorpholine n'ont pas été étudiés avec le saule.

1.4.2.3 Solvants eutectiques profonds

Depuis quelques années seulement, les solvants eutectiques profonds sont utilisés dans le secteur du bioraffinage à titre de prétraitement. Lorsque deux ou plusieurs composés solides sont mis en contact en proportion exacte, ils forment un mélange

liquide à température ambiante (Smith *et al.*, 2014). Selon la nature de ces composés, ils ont la capacité de solubiliser plus ou moins facilement les composantes structurales de la biomasse (Tan *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020). À ce jour, quelques équipes se sont intéressées au prétraitement du saule à l'aide des solvants eutectiques profonds (Li *et al.*, 2017 b; Lyu *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2019).

1.4.2.4 Ultrasons

Les ultrasons fragmentent la biomasse à l'aide d'ondes oscillantes à différentes fréquences permettant de briser des liaisons chimiques au sein de la biomasse (Ravindran et Jaiswal, 2016). Elles augmentent la surface de contact pour une éventuelle hydrolyse enzymatique, mais aussi pour des étapes supplémentaires de prétraitement (Mussatto et Dragone, 2016). Bien que les ultrasons agissent rapidement et qu'elles réduisent la taille des particules, elles nécessitent de l'équipement très dispendieux. Elles consomment aussi beaucoup d'énergie par rapport à leur rendement (Soltanian *et al.*, 2020). Cette technique n'est pas utilisée pour le moment pour la valorisation du saule.

1.4.2.5 Énergie électrique pulsée

Cette technique utilise les champs électriques pour faire éclater les membranes cellulaires et ainsi libérer le contenu (Hassan *et al.*, 2018; Mussatto et Dragone, 2016). Cependant, des travaux futurs permettront de mieux définir cette technique encore peu connue se rapportant à la biomasse lignocellulosique.

1.4.3 Techniques chimiques

Dans les techniques chimiques, il y a deux techniques différentes : les réactions catalytiques et l'ozonolyse. Ces techniques entraînent une transformation chimique au sein de la structure.

1.4.3.1 Réactions catalytiques

Les réactions catalytiques regroupent les réactions acides, alcalines et enzymatiques (Baruah *et al.*, 2018). L'utilisation de ces catalyseurs permet l'abaissement de l'énergie d'activation de certaines réactions libérant ainsi certaines structures de la biomasse. Les acides ciblent bien souvent les sucres structuraux de la biomasse et minoritairement les lignines, puisqu'elles sont insolubles en milieu acide (Lloyd et Wyman, 2005). Les bases hydrolysent à la fois des sucres et les lignines (Chang et Holtapple, 2000; Kim *et al.*, 2016), tandis que les enzymes seront spécifiques à certaines entités moléculaires dans la biomasse (Baruah *et al.*, 2018). Selon la concentration de ces catalyseurs, les réactions peuvent être très agressives, ou peu agressives (Mussatto et Dragone, 2016). Les désavantages des réactions catalytiques acides et basiques sont les coûts associés à la résistance des matériaux nécessaires pour de telles réactions, leur neutralisation après réaction et la formation de grandes quantités de produits de dégradation comme les inhibiteurs enzymatiques (Maurya *et al.*, 2015). Concernant l'emploi d'enzymes, le coût des enzymes est très élevé et les rendements de conversion des sucres en monomères ne sont généralement pas très élevés (Soltanian *et al.*, 2020). Quelques études portant sur les réactions catalytiques avec le saule sont déjà parues (Alexandropoulou *et al.*, 2017; Zhong *et al.*, 2020; Ziegler-Devin *et al.*, 2019). Toutefois, ces études demeurent peu abondantes.

1.4.3.2 Ozonolyse

L'ozonolyse est une technique de prétraitement spécifique aux lignines (Perrone *et al.*, 2018). La biomasse est introduite dans une chambre à gaz et, une fois scellée, la chambre est remplie d'ozone permettant l'oxydation des lignines et leur retrait de la biomasse (Mussatto et Dragone, 2016). Les avantages de l'ozonolyse sont l'opération du procédé à température ambiante et pression normale tout en ne générant pas de produits de dégradation (Maurya *et al.*, 2015; Travaini *et al.*, 2016). Les désavantages sont la nécessité d'avoir sur le site industriel une zone de production d'ozone, l'inflammabilité et la toxicité de l'ozone (Soltanian *et al.*, 2020). À ce jour, les études des prétraitements par ozonolyse ne se concentrent pas sur la biomasse de saule.

1.4.4 Techniques physico-chimiques

Dans les techniques physico-chimiques, l'autohydrolyse, les explosions et la pyrolyse sont les trois techniques les plus utilisées.

1.4.4.1 Autohydrolyse

L'autohydrolyse fait appel à la théorie thermodynamique des fluides. L'utilisation de l'eau à des températures et des pressions sous-critiques ($> 5 \text{ MPa}$) permettent l'autohydrolyse des sucres dans la biomasse (Baruah *et al.*, 2018; Mussatto et Dragone, 2016). À la différence des réactions catalytiques, l'autohydrolyse a l'avantage d'hydrolyser les sucres sans nécessairement avoir recours à des catalyseurs (Soltanian *et al.*, 2020). Bien qu'elle forme des produits de dégradation, elle les réduit considérablement par rapport aux autres techniques. Cependant, son utilisation en eau et en énergie est très élevée (Maurya *et al.*, 2015). Elle se démarque d'ailleurs avec de la biomasse faible en lignines (Soltanian *et al.*, 2020). Quelques équipes scientifiques se penchent sur cette technique appliquée à la biomasse de saule (Grigoras *et al.*, 2017; Kučerová et Výbohová, 2018).

1.4.4.2 Explosions

Les explosions se déclinent en trois types : à la vapeur, à l'ammoniac et au CO₂. Ces trois explosions ont toutes en commun leur pénétration dans la biomasse sous forme liquide et, lorsque la dépressurisation de la chambre à gaz s'effectue, ces liquides reprennent leur forme gazeuse à pression normale en faisant éclater la biomasse (Baruah *et al.*, 2018). Cependant, l'explosion au CO₂ permet seulement de réduire la taille de la biomasse (Zheng *et al.*, 1998). Les explosions à la vapeur ou à l'ammoniac permettent non seulement de réduire la taille de la biomasse en la faisant éclater, mais elles permettent aussi la solubilisation de certains sucres ou des lignines (Mussatto et Dragone, 2016). Ces techniques hydrolysent efficacement les sucres, produisent peu de produits de dégradation et présentent une faible toxicité à l'exception de l'explosion à l'ammoniac. Cependant, leur coût d'investissement est très élevé et les réactions sont

souvent incomplètes (Soltanian *et al.*, 2020). Eklund *et al.* (1995) est la seule équipe ayant débuté des recherches sur l'explosion à la vapeur en lien avec le saule. Ils rapportent avoir eu un rendement maximal de 95 % en glucose après traitement enzymatique lorsque la biomasse est prétraitée à 200 °C et imprégnée à 1 % de SO₂ pendant 10 minutes.

1.4.4.3 Pyrolyse

La pyrolyse consiste à faire une combustion de la biomasse sous atmosphère inerte. Cette combustion permet l'obtention de trois fractions : solide, liquide et gazeuse (Carton, s. d.; Soltanian *et al.*, 2020). Ces fractions ne sont pas pures et ne détiennent pas une structure spécifique de la biomasse, mais plutôt un mélange de sucres et de composés phénoliques issus des lignines (Mussatto et Dragone, 2016). La pyrolyse demande un capital financier important et n'est pas sélective quant à la structure de la biomasse à retirer. Toutefois, sa mise à l'échelle est bien maîtrisée (Soltanian *et al.*, 2020). La pyrolyse combinée à la biomasse de saule a été étudiée dans les dernières années pour de la production de bioénergie (Ahmadi Moghaddam *et al.*, 2019; Ericsson *et al.*, 2017; Hyväloma *et al.*, 2018; Rasool *et al.*, 2018; Tarves *et al.*, 2017).

1.4.5 Techniques biologiques

1.4.5.1 Champignons

Dans les techniques biologiques, il y a l'utilisation des champignons, des bactéries ou des consortiums (Soltanian *et al.*, 2020). Les champignons grâce à leur métabolisme permettent souvent la délignification de la biomasse alors que les bactéries permettent quant à elle la transformation des sucres en produits à haute valeur ajoutée (Mussatto et Dragone, 2016). À titre d'exemple, Alexandropoulou *et al.* (2017) a comparé la capacité de deux champignons à déligner du saule. L'espèce *Abortiporus biennis* a ressorti comme étant le plus efficace par rapport à *Leiotrametes menziesii* en augmentant de 43 % le potentiel biochimique du méthane. Une combinaison de l'*A. biennis* et un

prétraitement alcalin a permis une augmentation du potentiel biochimique du méthane de 50,1 %.

1.4.5.2 Bactéries

Elles permettent entre autres la conversion des monosaccharides en des produits à valeur ajoutée (Mussatto et Dragone, 2016). Cependant, leur application se diversifie au rythme des découvertes faites en biologie. D'après la revue de Zhu *et al.* (2020), plusieurs types de bactéries de type acidophile, alcaliphile, thermophile, etc. permettront de multiplier les voies de prétraitement et de conversion de la biomasse lignocellulosique. À ce jour, cette voie n'a pas été empruntée dans les prétraitements du saule.

Ces techniques sont diversifiées, mais s'attaquent, sans discrimination, à plusieurs composantes structurales de la biomasse (Mussatto et Dragone, 2016; Tomás-Pejó *et al.*, 2011).

1.5 Composantes structurales du bois

La structure du bois est complexe et se définit à plusieurs échelles (Figure 1.5). À l'échelle macroscopique, le bois se définit par les branches et le tronc. Le tronc est utilisé notamment comme planches. Ces planches, à l'échelle microscopique, sont constituées de tissus cellulaires. À l'échelle nanoscopique, les parois cellulaires se définissent encore davantage en des structures chimiques bien précises (Dang, 2016; Elaieb, 2014).

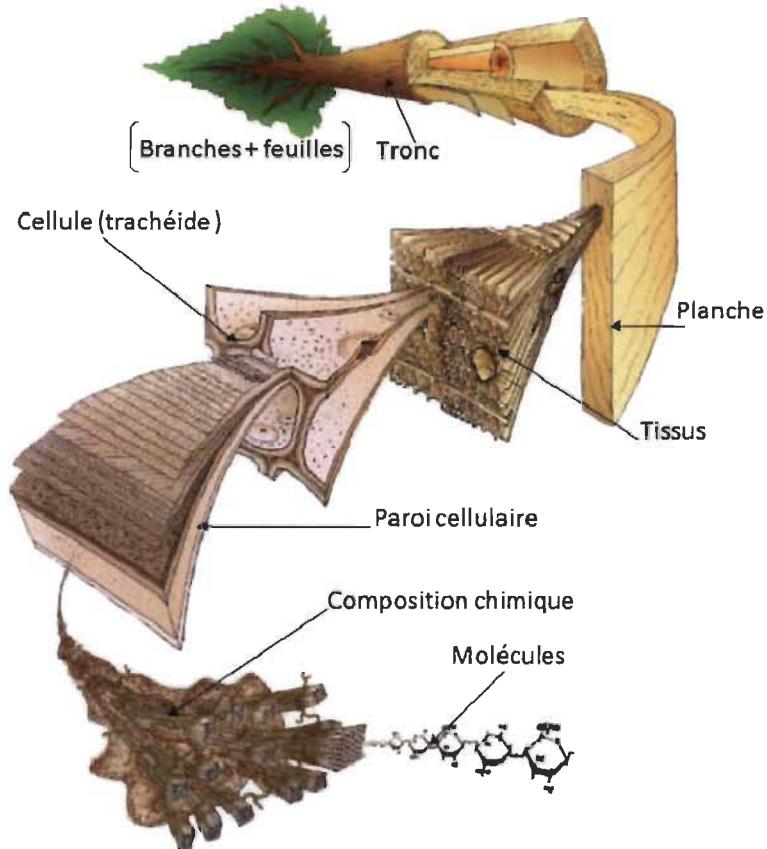


Figure 1.5 Organisation (échelle macro à échelle moléculaire) du bois (adaptée de Harrington [1998], citée de Dang [2016]).

Ces structures chimiques se déclinent en trois groupes : hémicelluloses, lignines et cellulose. Elles constituent les pièces maîtresses de la composition du bois (Figure 1.6).

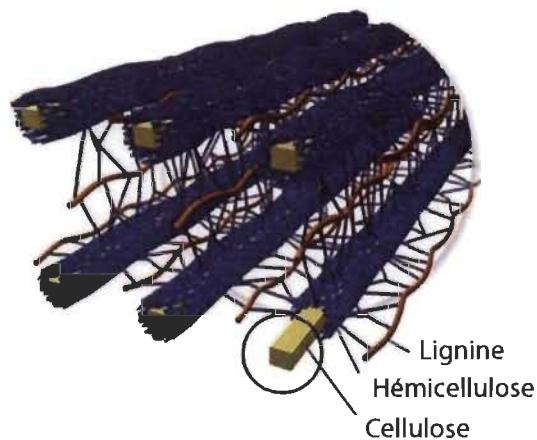


Figure 1.6 Composantes moléculaires du bois (Association forestière du sud du Québec, 2020).

Elles sont des biopolymères, pour la plupart, formant la matière lignocellulosique de la biomasse. Selon sa famille, les proportions des composantes chimiques du bois varient (Tableau 1.1).

Tableau 1.1
Composition typique de la biomasse (Base sèche)

Famille/Espèce	Extractibles et cendres (%)	Hémicelluloses (%)	Cellulose (%)	Lignines (%)	Source
Feuillus	-	24 – 40	45 – 55	18 – 25	(Malherbe et Cloete, 2002)
Conifères	-	25 – 35	45 – 50	25 – 35	(Malherbe et Cloete, 2002)
Saule (<i>S. viminalis</i>)	8,5 ± 0,5	15,6 ± 0,5	46,5 ± 0,5	29,4 ± 0,5	(Kucharska et al., 2019)
Saule (<i>S. viminalis</i> , <i>S. dasyclados</i> et <i>S. miyabeana</i>)	~ 7,1 – 14,5	-	-	~ 20 – 27	(Berthod et al., 2015)
Saule (<i>S. myrsinifolia</i> , Karin, Kiara et <i>S. schwerinnii</i>) Écorces	~ 27	~ 14	~ 28	~ 18	(Dou et al., 2016)
Saule (<i>S. myrsinifolia</i> , Karin, Kiara et <i>S. schwerinnii</i>) Bois	~ 4	~ 24	~ 41	~ 24	(Dou et al., 2016)
Saule (non spécifié) Sciures	-	30	42 (alpha-cellulose)	26	(Lempäinen et al., 2020)
<i>S. viminalis</i> Start	-	31,16 ± 0,41	43,78 ± 0,26	26,33 ± 0,18	(Krzyżaniak et al., 2014)
<i>S. viminalis</i> Tur	-	33,03 ± 0,65	43,70 ± 0,39	26,22 ± 0,11	(Krzyżaniak et al., 2014)
<i>S. viminalis</i> Turbo	-	30,66 ± 0,46	44,89 ± 0,32	25,81 ± 0,49	(Krzyżaniak et al., 2014)
<i>S. viminalis</i> UWM 006	-	30,88 ± 0,73	45,31 ± 0,44	24,62 ± 0,26	(Krzyżaniak et al., 2014)
<i>S. viminalis</i> UWM 043	-	31,80 ± 0,61	42,36 ± 0,04	24,98 ± 0,08	(Krzyżaniak et al., 2014)
<i>S. pentandra</i> UWM 035	-	29,14 ± 0,75	47,64 ± 0,38	24,65 ± 0,19	(Krzyżaniak et al., 2014)
<i>S. dasyclados</i> UWM 155	-	30,63 ± 0,40	42,88 ± 0,25	25,99 ± 0,37	(Krzyżaniak et al., 2014)

1.5.1 Extractibles

Les extractibles provenant du bois sont des molécules se trouvant à l'extérieur des parois cellulosiques. Elles confèrent aux arbres des traits distinctifs tels que les odeurs, leurs couleurs, ainsi que leurs propriétés acoustiques et mécaniques, dont la résistance à la dégradation (Ghislain *et al.*, 2020; Stevanovic, 2016). Synthétisées lorsque l'arbre entre dans son métabolisme secondaire, ces molécules sont particulièrement labiles dans les vaisseaux de l'arbre, mais ne participent pas à sa croissance. Les teneurs respectives diffèrent selon l'espèce, l'âge, la partie de l'arbre étudiée ou encore sa localisation géographique (Stevanovic, 2016; Tyśkiewicz *et al.*, 2019). Particulièrement concentrés dans les écorces, ces métabolites secondaires défendent l'arbre contre les envahisseurs tels que les virus, les bactéries et tous autres parasites (St-Pierre, 2018; Stevanovic, 2016). Dans le cas du saule, ces molécules (extractibles) ont démontré des propriétés anti-inflammatoire, anti-rhumatique et analgésique (Figure 1.7).

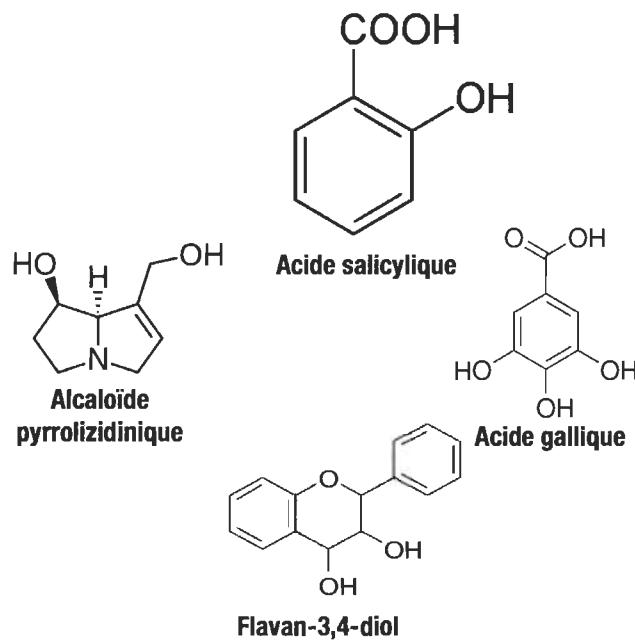


Figure 1.7 Exemples d'extractibles présents dans la biomasse de saule.

On retrouve par exemple l'acide salicylique, précurseur de l'aspirine, qui est de loin la molécule la mieux connue pour ces propriétés antalgiques et anti-inflammatoires (Tyśkiewicz *et al.*, 2019).

Bien que les extractibles présentent des propriétés particulières, ceux-ci doivent être retirés préalablement de la biomasse afin d'évaluer précisément la composition structurale de la biomasse analysée (Sluiter *et al.*, 2008). Toujours selon Sluiter (2008), le retrait partiel des extractibles hydrophobes entraînerait une sous-évaluation des sucres structuraux en inhibant la pénétration de l'acide sulfurique essentiel pour l'hydrolyse des polysaccharides et une surévaluation des lignines insolubles.

1.5.2 Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont une des trois composantes de la paroi cellulosique des cellules végétales (Stevanovic, 2016). Dans le chapitre 3 du « Lignocellulosic biomass », écrit par Ghislain *et al.* (2020), on les retrouve sous forme de biopolymères ramifiés, c'est-à-dire des chaînes de sucres dans la biomasse. Elles sont constituées de monomères de sucres tels que le glucose, le mannose, le xylose, l'arabinose, le galactose, le rhamnose, le fucose ainsi que deux acides : galacturonique et glucuronique (Stevanovic, 2016). Ces monomères sont liés par des liens glucosidiques afin de former les chaînes complexes des hémicelluloses (Figure 1.8). Puisque les saules sont des feuillus, leurs hémicelluloses sont constituées de glucoronoxylanes (15-30 %), de glucomannanes (2-5 %), de galactoglucomannanes (3-5 %) ainsi que de xyloglucanes (2-25 %) (Ghislain *et al.*, 2020).

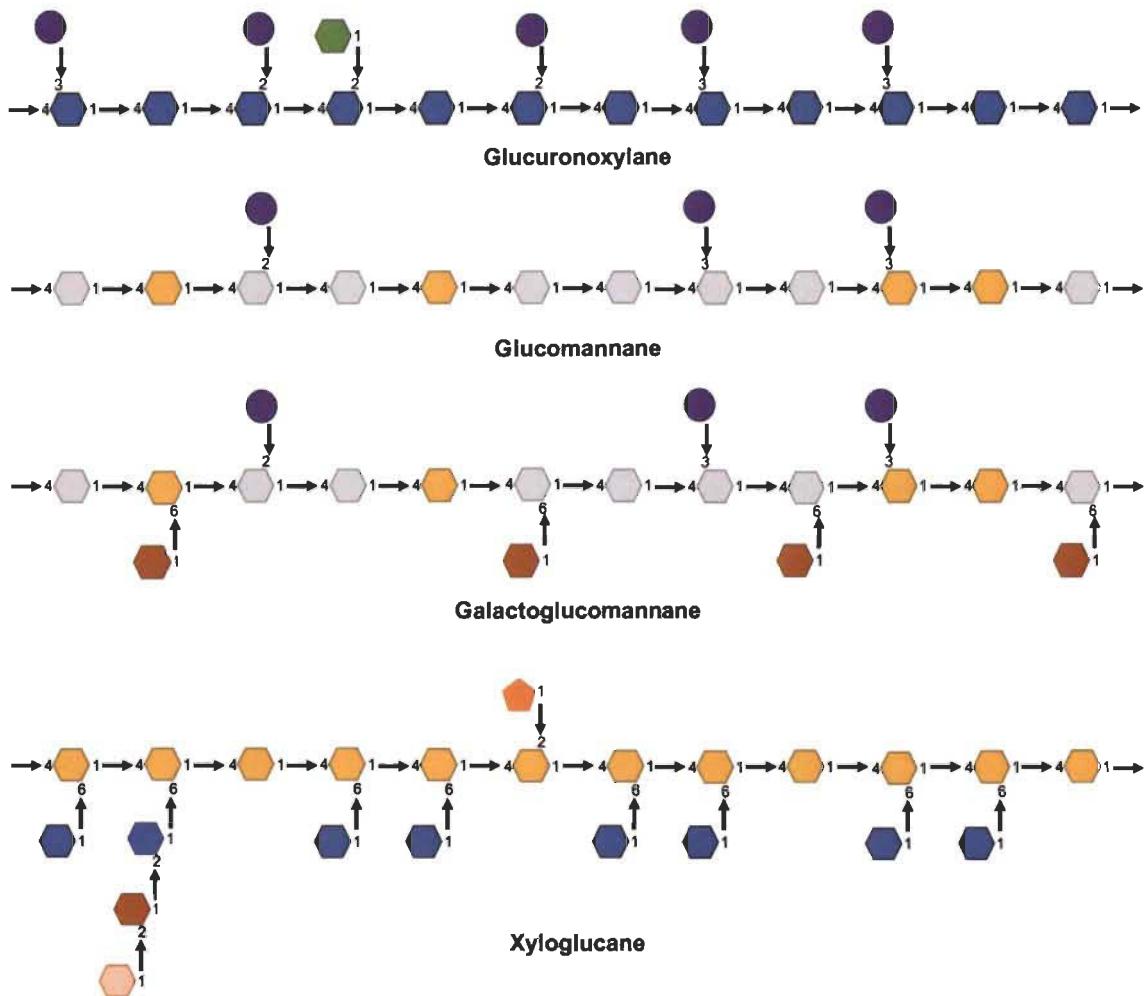


Figure 1.8 Principales chaînes d'hémicelluloses retrouvées dans les feuillus tels que le saule. Les hexoses sont liés par des liens α – (1 → 6) ou β – (1 → 4). (● = xylopyranose, ● = acétyle, ● = acide glucuronique, ○ = mannopyranose, ○ = glucopyranose, ■ = galactopyranose, ▲ = arabinofuranose, △ = fucopyranose) (Ghislain *et al.* (2020)).

Les hémicelluloses peuvent être extraites en milieu acide ou basique (Farhat *et al.*, 2017; Flórez-Pardo *et al.*, 2018; Haldar et Purkait, 2020; Krishania *et al.*, 2018; Stoklosa et Hodge, 2009). Toutefois, lors de leur fractionnement, elles peuvent produire des produits de dégradation tels que le furfural ainsi que le 5 – Hydroxyméthylfurfural (HMF) (Świątek *et al.*, 2020). Ces molécules sont des formes déshydratées des sucres monomériques et se forment généralement en présence d'un catalyseur acide (H_2SO_4) concentré. Le temps de la réaction ainsi que de la température du milieu réactionnel sont aussi des facteurs déterminants dans la formation du furfural et du HMF (Świątek *et al.*, 2020). Ces molécules demeurent toutefois potentiellement valorisables sur les marchés.

1.5.3 Lignines

Les lignines représentent la deuxième des trois composantes structurales se retrouvant dans la paroi cellulosique (Curti, 2018). Elles s'organisent sous forme de polymères amorphes dans la biomasse et agissent comme une colle permettant d'assurer la rigidité de l'arbre. Elles sont complexes et essentielles aux plantes vasculaires en raison de leur hydrophobicité, une caractéristique chimique permettant le déplacement facilité de la sève au sein des vaisseaux (Stevanovic, 2016). Représentant entre 18 et 25 % de la biomasse totale (Malherbe et Cloete, 2002; Stevanovic, 2016), elles sont majoritairement extraites en milieu basique ou oxydant et se composent de trois alcools de base : coumarylique, coniférylique et sinapylique.

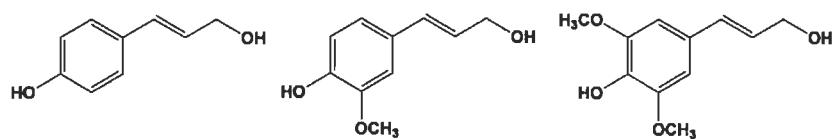


Figure 1.9 Monomères de lignines (à partir de la gauche : Alcool *p*-coumarylique, coniférylique et sinapylique).

Ces alcools sont liés par différents liens, éther et carbone, pour constituer le réseau tridimensionnel des lignines et des liens, benzyléther et phénylglycosidique, pour interconnecter les réseaux ligneux et hémicellulosiques (Ghislain *et al.*, 2020).

1.5.4 Cellulose

Abondante et peu valorisée, la cellulose est la structure fondamentale de la biomasse à isoler. Elle se trouve au cœur de la paroi cellulosique (Curti, 2018). D'après Ghislain *et al.* (2020), la cellulose est un biopolymère composé de sous-unités de glucose. Elle a longtemps été utilisée directement pour faire notamment du papier. Variant entre 3000 et 5000 en degré de polymérisation et constituant entre 40 et 50 % de la biomasse, la cellulose est la composante la plus récalcitrante parmi les quatre principales composantes structurales. De par sa densité, sa conformation tridimensionnelle à favoriser une multitude de liaisons hydrogènes inter et

intramoléculaires et son organisation cristalline et amorphe, elle est difficilement dégradable par voie biologique et chimique (Ghislain *et al.*, 2020; Quinlan *et al.*, 2011). Toutefois, deux voies de valorisation peuvent être possibles. Une première voie, principalement enzymatique, permet d'hydrolyser la cellulose en glucose, une molécule fermentescible pour la production d'éthanol (Castillo-Saldarriaga et Velásquez-Lozano, 2019). La deuxième voie est plutôt chimique pour en faire, entre autres, une molécule du nom de lévoglucosane. Cette molécule plateforme est particulièrement prisée dans le secteur de la santé pour ces carbones asymétriques (Comba *et al.*, 2018; Hu *et al.*, 2020).

La cellulose, les extractibles, les hémicelluloses et les lignines sont les fractions moléculaires obtenues à la suite des prétraitements. Elles permettent notamment le développement de coproduits à haute valeur ajoutée.

1.6 Molécules d'intérêt et coproduits à haute valeur ajoutée

Les coproduits, potentiellement développés d'après les différentes structures, sont grandement diversifiés. L'Association forestière du sud du Québec (St-Michel, 2013) a dressé un portrait exhaustif des applications possibles des différents constituants du bois.

Tableau 1.2

Constituants principaux de la biomasse lignocellulosique et leurs applications

Cellulose	Viscose (vêtements, cellophane), nitrocellulose (sac gonflable, cosmétique, vernis, boule de billard, test de grossesse, fausse pierre précieuse), acétate de cellulose (brosse à dents, dé, carte de jeu, bloc LEGO™, film photographique, écran à cristaux liquides), éther de cellulose (goutte pour les yeux, crème glacée, gomme à mâcher, dentifrice), microcellulose cristalline (vitamine, médicament et additif alimentaire), nanocellulose cristalline (os artificiel, membrane pour écrans flexibles, crème solaire, lunette polarisée, emballage, pièce mécanique)
Hémicelluloses	Xylane (charcuterie, cosmétique, emballage), furfural (pesticide, arôme artificiel, mousse isolante, résine époxy), butanol (peinture, encre, adhésif, biosolvant, biocombustible), xylitol (substitut du glucose)
Lignines	Colle, fertilisant, céramique, granule de bois et de nourriture, béton, asphalte, détergent, shampoing, encre, peinture et teinture
Tannins	Cuir, vin
Colophane	Savon, shampoing
Acide salicylique	Aspirine™, Rutoside
Terpènes	Traitements contre le VIH et le cancer, caoutchouc, solvant, adhésif, polymère, revêtement, encens, ambre, huile essentielle

De manière plus spécifique, les extractibles permettent, par exemple, la réalisation de panneaux de particules agglomérées à l'aide d'adhésifs biosourcés grâce aux tannins (Li *et al.*, 2018). Ils permettent aussi le développement de médicaments et de produits nettoyants grâce aux agents antibactériens, antifongiques et antiviraux (Oleszek *et al.*, 2019). Les sucres hémicellulosiques permettent la production de biosolvants et de biocarburants comme l'acétone, l'éthanol et le butanol (Moreau *et al.*, 2015). De plus, ces sucres approvisionnent le marché agroalimentaire pour la production de confiseries (Holmbom, 2002). Les lignines permettent la confection de mousses d'isolation thermique particulièrement intéressante dans le secteur de la construction (Diop *et al.*, 2017). Puis, finalement, la cellulose elle-même peut être utilisée dans le secteur des

pâtes et papier, mais aussi pour l’élaboration de molécules plateformes pouvant servir dans le secteur de la chimie (Comba *et al.*, 2018; Hu *et al.*, 2020).

Comme les voies de valorisation de la biomasse sont diversifiées, une étude approfondie des prétraitements sur la biomasse de saule permettrait de valoriser au maximum cette ressource provenant de plantations filtrantes.

1.7 But et objectifs

Le but du projet est de proposer des voies de valorisation de la biomasse obtenue par le traitement d’eaux usées primaires avec une plantation de saules à croissance rapide (PSCR).

1.8 Hypothèses

- 1) L’irrigation des PSCR avec des eaux usées primaires augmentera la concentration en hémicelluloses, cellulose et extractibles, parce que l’azote (N) et le phosphore (P) de ces eaux stimulera la photosynthèse et le métabolisme des saules.
- 2) L’irrigation des PSCR avec des eaux usées primaires diminuera les concentrations en lignines relativement à l’augmentation des hémicelluloses et de la cellulose.
- 3) L’irrigation des PSCR stimulera l’augmentation des concentrations en polyphénols dans les écorces de saule en raison d’une exposition des saules à des agents stressants de type organique.

Pour vérifier ces hypothèses, des objectifs spécifiques ont été formulés.

1.9 Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques du projet sont :

- 1) Analyser la composition structurale de la biomasse de saules en fonction des conditions d'irrigation.
- 2) Appliquer une technique de prétraitement pour fractionner les principales composantes de la biomasse de saule.
- 3) Saccharifier la fraction de la cellulose en sucres fermentescibles et proposer des voies de valorisation pour les hémicelluloses et les lignines.

L'originalité de ce projet réside dans l'étude de différentes composantes de la biomasse de saules irrigués ou non avec des eaux usées primaires, et ce, dans une perspective de bioraffinage.

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Dispositif expérimental sur le terrain

Un dispositif expérimental a été mis en place sur un terrain agricole à Saint-Roch-de-L'Achigan. Le dispositif est un bloc aléatoire complet avec trois blocs et les traitements (irrigations) ont été distribués aléatoirement. Une plantation de saule à croissance rapide a été initiée, en 2008, avec des boutures (*Salix miyabeana SX67*) selon une densité de 16 000 tiges/hectare (Guidi Nissim *et al.*, 2015; Jerbi *et al.*, 2015, 2020; Lachapelle-Trouillard, 2017).

En 2016, un dispositif d'irrigation avec des eaux municipales primaires a été mis en place.

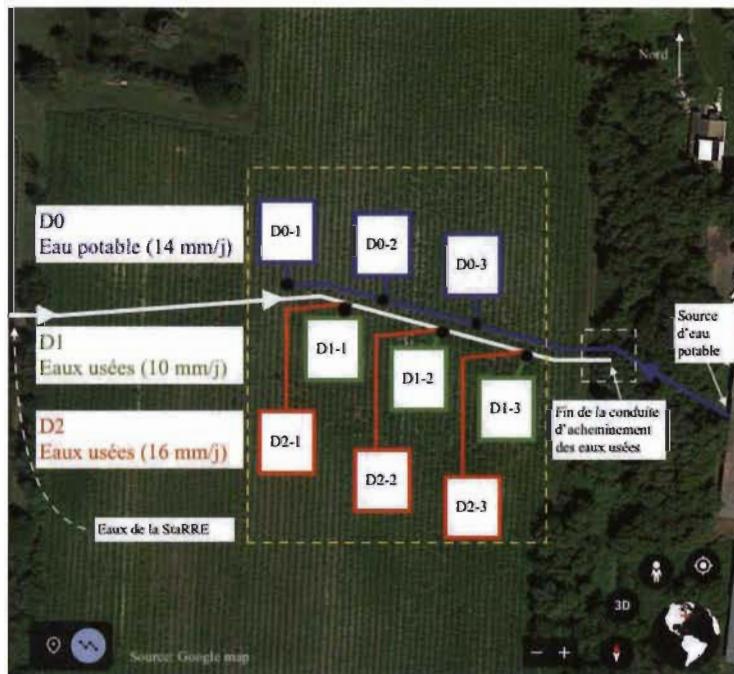


Figure 2.1 Organisation des parcelles expérimentales sur le site de St-Roch-de-L'Achigan (vue aérienne, pas à l'échelle).

Selon Lachapelle-Trouillard (2017), le dispositif expérimental a été placé au cœur d'une parcelle agricole accueillant des saules (*Salix miyabeana SX67*). Certaines parcelles ont été identifiées comme les « Contrôles » (saules non irrigués) et d'autres ont été délimités en neuf blocs expérimentaux d'une superficie de 108 m². Dimensionnés à 10 m de longueur, ces blocs sont composés de 6 rangs espacés de 1,8 m (Figure 2.1). La distance inter-bloc au sein d'une même condition expérimentale (D0, D1 ou D2) est de dix mètres. Chacune des conditions expérimentales a été subdivisée en trois blocs. Quatre rangs par bloc expérimental ont été irrigués pendant l'expérience totalisant une surface directe d'irrigation de 72 m² par bloc. La première condition a été d'irriguer les saules avec de l'eau potable qui provenait d'une source souterraine à raison de 14 mm/j (dose **D0**, cible initiale de 1 000 L/j). La deuxième et la troisième condition ont été irriguées avec un effluent primaire d'eaux usées. Trois blocs ont été irrigués à raison de 10 mm/j (dose **D1**, cible initiale de 1 000 L/j) et les trois derniers blocs ont été irrigués à raison de 16 mm/j (dose **D2**, cible initiale de 1 500 L/j).

Afin de mieux comprendre le développement des saules en fonction des types d'irrigation, les propriétés de l'eau potable et de l'affluent d'eaux usées primaires ont été évaluées selon différents paramètres (Tableau 3).

Tableau 2.1

Caractérisation de l'eau potable et de l'affluent de la plantation
(Lachapelle-Trouillard, 2017)

Paramètres	Unités	Eau potable¹			Affluent	
		Moyenne	Moyenne	Écart-type	Moyenne	Écart-type
MES (Aff. Station)	mg/L	-	128	118		
MES	mg/L	-	54	16		
MVES	mg/L	-	46	16		
MIES	mg/L	-	8	2		
DBO ₅ (Aff. Station)	mg O ₂ /L	-	102	30		
DBO ₅	mg O ₂ /L	-	118	28		
DCO (Aff. Station)	mg DCO/L	-	297	144		
DCO	mg DCO/L	5	224	53		
X _{DCO}	mg DCO/L	-	118	28		

Paramètres	Unités	Eau potable ¹		
		Moyenne	Moyenne	Écart-type
DCOr	mg DCO/L	-	106	31
S _U	mg DCO/L	-	18	4
NT	mg N/L	-	30	7
NTK	mg N/L	1,53	31	8
N _{org}	mg N/L	-	9	5
NH ₄	mg N/L	1,12	20	3
NO _x	mg N/L	0,03	0,05	0,03
PT (Aff. Station)	mg P/L	-	4	0,7
PT	mg P/L	0,2	3,1	0,6
o-PO ₄	mg P/L	0,13	1,5	0,5
pH	--	-	7,7	0,2
CE	dS/m	0,387	2,7	1,4
Ca ²⁺	mg Ca/L	-	142	83
Mg ²⁺	mg Mg/L	-	41	19
K ⁺	mg K/L	-	13	4
Na ⁺	mg Na/L	-	371	192
SO ₄ ²⁺	mg S/L	-	34	8
Cl ⁻	mg Cl/L	-	628	528

¹ D'après Lachapelle-Trouillard (2017.), un seul échantillon d'eau potable a été analysé le 3 août 2016.

2.2 Échantillonnage et conditionnement de la biomasse de saule

En décembre 2017, quatre arbustes entiers par parcelle ont été coupés et rapportés au laboratoire (48 arbres au total) (Jerbi *et al.*, 2020).

Les échantillons ont été réduits en copeaux avec une déchiqueteuse (Bearcat SC3206 3" Chipper Shredder). Par la suite, l'utilisation d'une broyeuse munie d'un tamis de 2 mm (Thomas Wiley Laboratory Mill Model 4) a permis d'obtenir une granulométrie plus fine (< 2 mm). Ensuite, la biomasse a été tamisée de nouveau avec un Test Sieve ASTM E-11 Standard n°20 (850 µm) et n°80 (180 µm) à l'aide d'une plaque agitatrice, pendant 5 minutes, avec une rotation de 450 RPM.

2.3 Analyses de la composition des échantillons de la biomasse de saule

2.3.1 Méthode du NREL

Ces analyses ont débuté par une analyse du contenu en humidité de chaque échantillon. Pour ce faire, l'humidité de chaque échantillon, représenté par la fraction [180, 850] µm, a été analysée à l'aide d'une balance munie d'un élément chauffant de modèle Mettler Toledo MJ33 pour pouvoir comparer ultérieurement sur une même masse les échantillons (base sèche). Selon la méthode du NREL (2008), les échantillons ont été extraits avec un extracteur aux solvants accélérés (ASE350). Cette première étape a permis de retirer, avec l'eau et l'éthanol comme solvants, les métabolites secondaires, appelés extractibles, de la biomasse. Un cycle plutôt que trois de 7 minutes à l'eau puis à l'éthanol à une pression de 1 500 PSI et une température de 100 °C a été effectué (Sluiter *et al.*, 2008).

2.3.2 Lignines

300 mg de biomasse post-extraction a été déposé dans un tube autoclavable. À cette masse, 3 mL d'acide sulfurique concentré à 72 % a été ajouté, puis ces tubes ont été placés à 35 °C dans un bain-marie pendant 60 minutes. Toutes les 15 minutes, la biomasse était brassée pour assurer une homogénéisation de la réaction d'hydrolyse des sucres. Ensuite, 84 mL d'eau ultrapure était ajouté aux tubes. Après, les tubes étaient agités et envoyés à l'autoclave pendant 60 minutes. À la suite de cette étape, les solutions des tubes ont été filtrées sur creuset pour retenir les lignines insolubles (fraction insoluble) et récupérer le filtrat pour d'autres analyses (fraction soluble). La fraction insoluble correspondant aux lignines insolubles a été séchée pendant 24 h, pesée, calcinée à 575 °C et pesée de nouveau. Quant aux filtrats (fraction soluble), une aliquote a été analysée au spectromètre UV-Vis (NanoPhotometer™ P300 d'IMPLEN) pour quantifier les lignines solubles.

2.3.3 Hémicelluloses et cellulose

La deuxième fraction (fraction soluble) a été neutralisée avec du carbonate de calcium, filtrée sur 0,45 µm et envoyée pour une analyse des sucres en HPLC-RID, d'après la méthode de Sluiter *et al.* (2004), au CEPROCQ (Collège de Maisonneuve).

2.4 Prétraitements

À la suite des analyses structurales de la biomasse de saule, un prétraitement en deux étapes a fait l'objet d'une évaluation dans le but de choisir les meilleurs paramètres pour une saccharification optimale de la cellulose. Le prétraitement s'inspire de celui développé dans les laboratoires de la Chaire de recherche industrielle en environnement et biotechnologie de l'UQTR et d'Innofibre qui consiste à faire une cuisson à l'eau chaude pour retirer les hémicelluloses, suivie d'une cuisson à l'hydroxyde de sodium (NaOH) pour séparer les lignines de la cellulose (Duquette *et al.*, 2013). Dans le cas spécifique de ce projet, les prétraitements sont effectués sur les échantillons libres de tout extractibles, c'est-à-dire « extractible-free ».

2.4.1 Extraction des extractibles

Dix grammes de biomasse sèche a été extrait avec l'extracteur par solvants accélérés (modèle ASE350 de Dionex). Employant un cycle d'une pression de 1500 PSI, une température de 100 °C, un temps de résidence de 7 minutes et l'emploi d'eau et d'éthanol comme solvant, les extractibles ont pu être retirés de manière substantielle. Ces paramètres ont été utilisés en deux étapes successives, c'est-à-dire une étape faisant l'emploi d'eau à 100 % et une deuxième étape faisant l'emploi d'éthanol à 100 % afin de représenter le plus fidèlement l'approche industrielle (Sluiter *et al.*, 2008).

2.4.2 Cuisson à l'eau chaude

Basée sur l'article de Kučerova (2018), une cuisson à l'eau chaude a suivi le retrait des extractibles selon trois temps de résidence différents soit : 30, 60 et 120 minutes.

Grâce à l'extracteur, la combinaison entre la température (160 °C), la pression (1500 PSI), le solvant (100 % eau), l'autohydrolyse des sucres hémicellulosiques de la biomasse a pu être évaluée selon les trois temps de résidence mentionnés ci-haut.

2.4.3 Cuisson à l'hydroxyde de sodium (NaOH)

Après avoir déterminé la meilleure condition de cuisson à l'eau chaude, la cuisson au NaOH a fait l'objet d'une évaluation quant à la concentration en NaOH la plus efficace pour retirer les lignines insolubles. Ainsi, toujours avec l'extracteur (ASE350), trois concentrations différentes soient : 1, 2 et 4 % (m/v) ont été testées. C'est grâce à la combinaison entre la pression (1500 PSI), la température (170 °C) et le temps de résidence (60 minutes) que l'hydrolyse des lignines par voie caustique a pu être évaluée en fonction des trois concentrations mentionnées ci-haut. Cette démarche a été inspirée de la méthode employée par l'équipe de Korotkova *et al.* (2015).

2.5 Analyses des coproduits

À la suite des prétraitements, plusieurs hydrolysats ont été obtenus selon les différentes conditions et ces derniers ont fait l'objet d'analyses à savoir les sucres réducteurs majoritaires (glucose et xylose), les produits de dégradation des hémicelluloses (HMF et furfural) et finalement, les lignines.

2.5.1 Sucres réducteurs

Les sucres réducteurs ont été quantifiés par spectromètre UV-Vis (Modèle NanophotometerTM Pearl d'Implen). Afin d'être détectable, une dérivation de ces molécules par l'*O*-Toluïdine a été nécessaire. Pour ce faire, 100 µL de la fraction aqueuse des hydrolysats a été prélevé et déposé dans des tubes à essai. Ensuite, 4 mL d'un mélange *O*-Toluïdine et d'acide acétique glacial a été ajouté au 100 µL. Ces tubes ont été placés dans un bain-marie contenant de l'eau bouillante pendant 10 minutes pour enclencher la réaction entre la fonction aldéhyde des sucres et l'*O*-Toluïdine.

Après, les tubes ont été plongés dans un bain d'eau froide pour arrêter rapidement la réaction. Enfin, les solutions ont été passées dans le spectromètre UV-Vis à une longueur d'onde de 630 nm (glucose) et 470 nm (xylose). Les absorbances ont été rapportées sur une courbe de calibration préalablement obtenue pour déterminer les concentrations de chaque échantillon (Hamlin et Cverna, 1982; Hyvärinen et Nikkilä, 1962; Marineau et Lafontaine, 2018).

2.5.2 HMF/Furfural

Les produits de dégradation des sucres mieux connus sous le nom d'hydroxyméthylfurfural et furfural ont aussi fait l'objet d'analyses et de vérification. Basée sur Li *et al.* (2017 a), l'extraction de ces produits et leur analyse dans les hydrolysats ont pu être possibles. Ainsi, 1 mL de chaque hydrolysat a été pesé afin de déterminer la masse volumique de chacun d'eux. Ensuite, 1 g de chaque échantillon a été déposé dans un tube Falcon de 15 mL. À cela, 4 mL de n-butanol saturé en eau a été ajouté. Chaque échantillon a été agité pendant 2 minutes puis centrifugé à 3500 RCF, pendant 5 minutes, à température ambiante. Après, le surnageant a été déposé dans un ballon volumétrique de 10 mL. L'extraction des molécules a été reprise à deux autres reprises avec 3 mL de n-butanol saturé en eau pour être finalement ajouté au 4 mL de n-butanol du ballon volumétrique. Amenées au trait de jauge, les solutions d'extraction ont été brassées pour les homogénéiser, ensuite filtrées sur 0,45 µm à l'aide d'une seringue et, enfin, déposées dans un vial pour HPLC. Ce vial a été envoyé pour analyses sur HPLC-UV/Vis afin de quantifier les produits de dégradation. Grâce à une courbe de calibration préalablement déterminée, les aires sous la courbe des pics ont été rapportées à une longueur d'onde de 282 nm (HMF) et 277 nm (furfural) (Li *et al.*, 2017a).

2.5.3 Précipitation des lignines extraites

Les lignines insolubles ont pu être récupérées quant à elles à la suite de leur extraction par voie caustique. Les lignines, majoritairement insolubles en milieu acide

ou neutre, le sont toutefois en milieu basique. Les lignines sont en partie hydrolysables lorsqu'un agent caustique comme le NaOH est employé. Le NaOH permet de briser les liens entre les molécules de lignines en y ajoutant une molécule d'eau. Une fois hydrolysés, les hydrolysats qui détiennent la fraction liquide du prétraitement prennent une couleur noire attribuable aux cycles aromatiques des lignines. Dans le but de la caractériser, ces lignines ont été récupérées par précipitation. Pour ce faire, les hydrolysats ont été versés dans des récipients allant dans une centrifugeuse. Une fois versé, le pH de chaque hydrolysat a été amené de 14 à 1 à l'aide d'un ajout d'acide chlorhydrique concentré. À pH 1, les solutions ont été centrifugées à 4 500 RPM pendant 5 minutes à température ambiante. Les solutions ont ensuite été filtrées sur un papier-filtre de 0,45 µm afin de retirer le plus possible les lignines résiduelles en suspension. Le filtrat a été neutralisé grâce au carbonate de calcium pour éventuellement analyser son contenu en sucres réducteurs et produits de dégradation (HMF/furfural). Le précipité de la solution, à l'occurrence les lignines, a été récupéré dans un premier temps à la spatule et déposé dans des vials préalablement pesés à sec. Ensuite, l'emploi d'acétone a permis de récupérer, par solubilisation, au maximum les lignines. Ces lignines ont été mises à sécher dans une étuve à 50 °C pendant 2 jours et, par la suite, séchées pendant 24 h à 105 °C dans une étuve. Après leur séchage, les lignines ont été pesées. Des analyses infrarouges ont été faites sur des échantillons de lignines afin d'observer de possibles différences structurales entre la biomasse « Contrôle » et irriguée. Ces analyses ont été faites grâce à l'appareil (Nicolet iS10 de Thermo Scientific) appartenant au Département de biochimie, chimie et physique de l'UQTR.

2.6 Statistiques

Le traitement statistique des données a été effectué grâce au logiciel JMP 15.1. Quatre répétitions ont été utilisées pour les analyses. Les tests ANOVA (1 facteur et 2 facteurs) en complémentarité avec Tukey-Kramer ont été utilisés pour identifier les possibles différences entre les traitements avec un seuil de 5 %.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

3.1 Impact des traitements

Afin d'évaluer l'impact des traitements d'irrigation sur la biomasse de saules, Jerbi et al. (2020) rapportent un premier constat quant à la biomasse totale des saules (Figure 3.1).

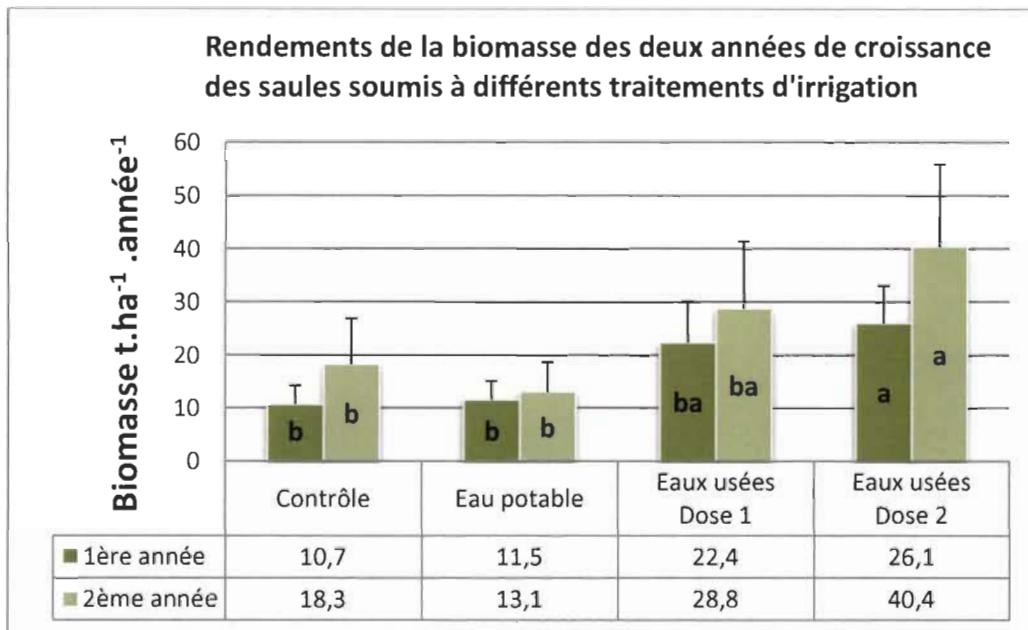


Figure 3.1 Rendements de la biomasse des deux années de croissance des saules soumis à différents traitements d'irrigation (Source : Ahmed Jerbi [Jerbi *et al.*, 2020]). Les lettres représentées au sein de l'histogramme signifient des différences statistiques entre les traitements.

En comparaison, les traitements (« Contrôle » et eau potable [b]) présentent donc des différences significatives par rapport au traitement en eaux usées (« Dose 2 » [a]). Cependant, le traitement en eaux usées « Dose 1 » ne présente aucune différence statistique par rapport aux autres traitements. La première année, en 2016, le traitement,

témoin, présentait 10,7 t de biomasse/ha, alors que le traitement eau potable présentait 11,5 t de biomasse/ha. Pour les traitements en eaux usées « Dose 1 » et « Dose 2 », la biomasse était respectivement de 22,4 et 26,1 t de biomasse/ha. Concernant la deuxième année, c'est-à-dire 2017, le traitement témoin était 1,7 fois plus élevé que la première année produisant ainsi 18,3 t de biomasse/ha. Le traitement en eau potable détenait 13,1 t de biomasse/ha. Les traitements en eaux usées « Dose 1 » et « Dose 2 » présentaient respectivement 28,8 et 40,4 t de biomasse/ha. Notons que pour la première année, le traitement en eaux usées « Dose 2 » produisait 2,4 fois plus de biomasse que le traitement témoin. Pour la deuxième année, c'est 2,2 fois plus de biomasse que le traitement en eaux usées « Dose 2 » produisait par rapport au traitement témoin.

3.2 Analyses de composition

Les analyses de composition de la biomasse ont été effectuées avant et après chaque prétraitement afin de suivre l'évolution de la biomasse. Toutes exprimées sur une base sèche, elles sont divisées en quatre grandes catégories : les extractibles, les hemicelluloses, la cellulose et les lignines.

3.2.1 Extractibles

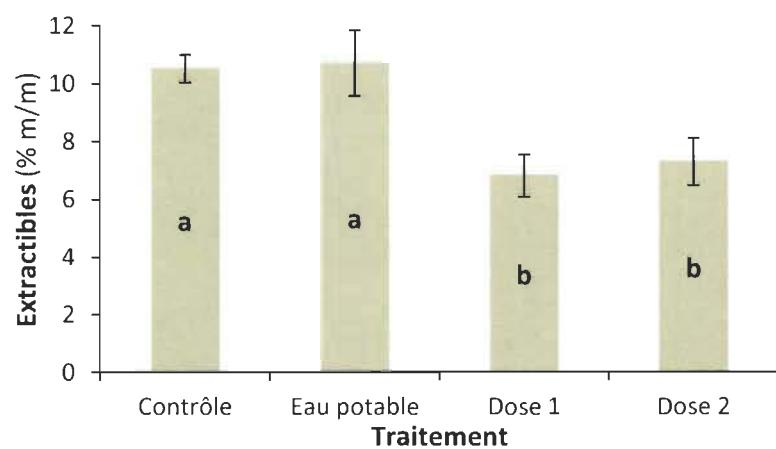


Figure 3.2 Teneurs en extractibles dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation.

La biomasse des arbres « Contrôle » non irrigués et ceux irrigués en eau potable avait des teneurs en extractibles de 10 % (Figure 3.2). Par contre, la biomasse des arbres ayant été irrigués avec une « Dose 1 » et une « Dose 2 » en eaux usées primaires ont montré une teneur en extractibles de 7 % de la biomasse sèche. Ceci représente une baisse significative de 3 % de la biomasse sèche par rapport aux deux autres traitements (« Contrôle » et eau potable).

3.2.2 Hémicelluloses

Les hémicelluloses ont été hydrolysées en sucres simples et sont représentées par le xylane, le galactane, l'arabinane et le mannane.

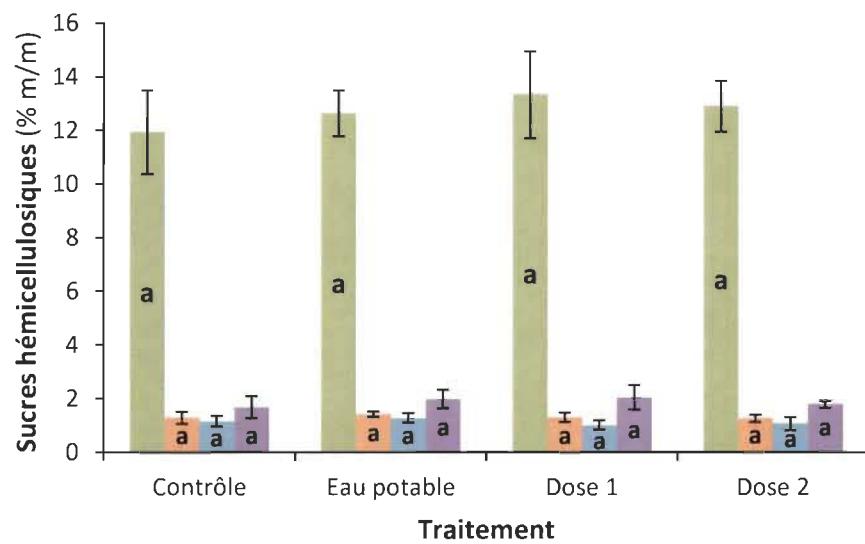


Figure 3.3 Teneurs en sucres hémicellulosiques dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation (● = Xylane, ● = Galactane, ● = Arabinane, ● = Mannane).

La biomasse des saules appartenant au traitement « Contrôle » (non irrigués) détenait une teneur en xylane de 12 % (Figure 3.3). Pour la biomasse de saules appartenant au traitement eau potable et eaux usées primaires (« Dose 1 » et « Dose 2 »), les teneurs en xylane étaient très similaires et correspondaient à une valeur de 13 %. Concernant le galactane, la biomasse de saules non irrigués se rapportant au traitement

« Contrôle » voyait sa teneur baisser à 1 %, ce qui en est de même pour les traitements en eau potable et en eaux usées primaires (« Dose 1 » et « Dose 2 »). Pour l'arabinane, la teneur était de 1 % pour la biomasse des arbres se rapportant au traitement « Contrôle » (non irrigués). Pour les traitements en eau potable et en eaux usées primaires (« Dose 1 » et « Dose 2 »), les teneurs en arabinane étaient identiques, c'est-à-dire de 1 %, au traitement « Contrôle » pour la biomasse de saules. Pour le mannane, la biomasse de saules non irrigués se rapportant au traitement « Contrôle » avait une teneur de 2 %. Cette teneur (2 %) s'est maintenue dans la biomasse pour les traitements d'irrigation en eau potable et en eaux usées primaires (« Dose 1 » et « Dose 2 »).

Aucun traitement ne s'est différencié de manière significative pour les sucres analysés. De plus, les analyses révèlent de manière générale une forte concentration en xylane dans la biomasse par rapport au galactane, à l'arabinane et au mannane.

3.2.3 Cellulose

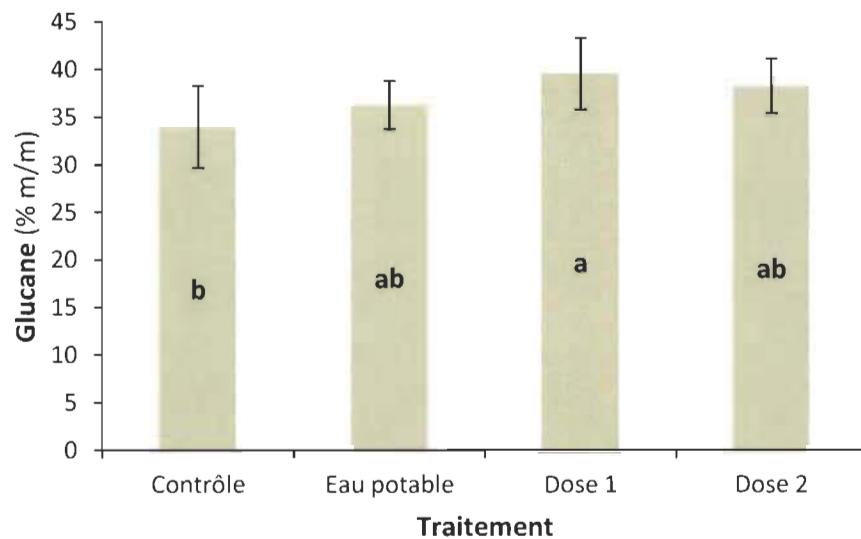


Figure 3.4 Teneurs en glucane dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation.

La biomasse des arbres appartenant au traitement « Contrôle » non irrigués démontrait une teneur de 34 % en glucane se rapportant essentiellement à la cellulose. La teneur en glucane augmentait à 36 %, lorsque les arbres étaient irrigués avec de l'eau potable. Lorsque les saules étaient irrigués en eaux usées primaires de « Dose 1 », le teneur en glucane augmentait à 40 %. Cependant, la teneur en glucane diminuait à 38 % dans la biomasse de saules irrigués en eaux usées primaires de type « Dose 2 ».

Seules des différences significatives ont été obtenues entre le traitement « Contrôle » et le traitement « Dose 1 ».

3.2.4 Lignines

Les fractions soluble et insoluble à l'acide des lignines ont été analysées. Tout d'abord, les pourcentages en lignines solubles (Figure 3.5), ne montrent pas de différences significatives entre les traitements non irrigués (« Contrôle ») et irrigués (eau potable, « Dose 1 » et « Dose 2 »).

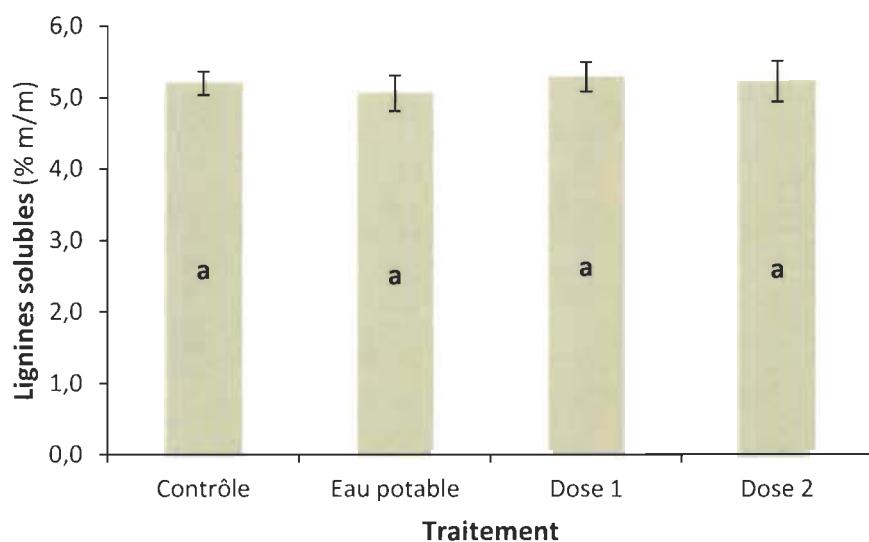


Figure 3.5 Teneurs en lignines solubles dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation.

La biomasse de saules non irrigués se rapportant au traitement « Contrôle » démontrait une teneur en lignines solubles de 5 %, ce qui était la même valeur pour les traitements irrigués (eau potable, eaux usées primaires « Dose 1 » et « Dose 2 »). Ainsi, les traitements n'illustraient pas de différences significatives entre eux. Le même comportement s'est observé avec les lignines insolubles.

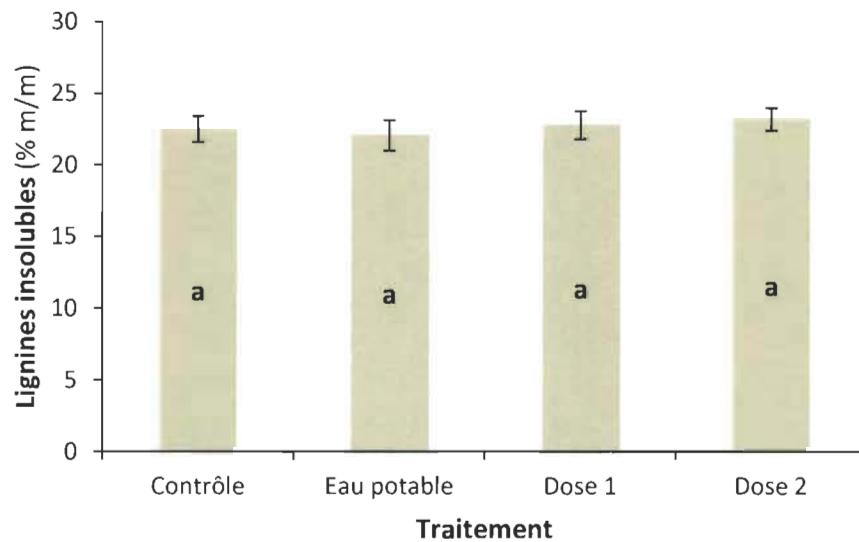


Figure 3.6 Teneurs en lignines insolubles dans la biomasse brute selon les différents traitements d'irrigation.

Pour le traitement « Contrôle », la biomasse de saules non irrigués contenait une teneur de 23 % en lignines insolubles. Lorsque les saules étaient irrigués avec de l'eau potable, la teneur en lignines insolubles était de 22 %. Concernant les traitements irrigués de type « Dose 1 » et « Dose 2 », les teneurs en lignines insolubles remontaient à 23 % dans la biomasse de saules. Ces différences n'étaient toutefois pas assez marquées pour être significatives.

3.3 Prétraitement : Autohydrolyse

La première étape de prétraitement consistait en une autohydrolyse à l'eau. Pour ce faire, trois temps de résidence (30, 60 et 120 min) de la biomasse ont été testés.

Afin de bien voir les possibles effets des différents prétraitements, les biomasses de saules « Contrôle » non irrigués et irrigués de type « Dose 2 » ont été privilégiées pour l'atteinte des objectifs.

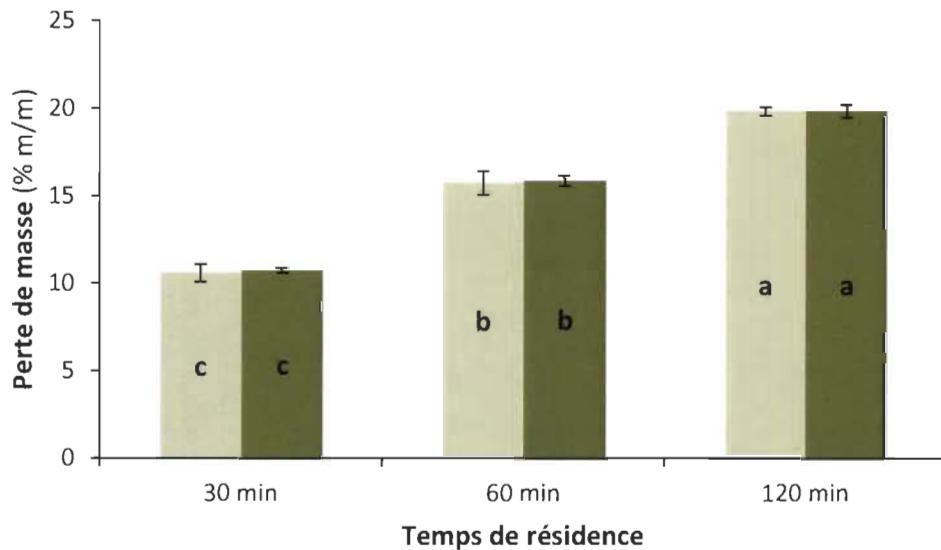


Figure 3.7 Perte de masse à la suite de l'autohydrolyse selon le temps de résidence (30, 60, 120 minutes) dans le four. ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

Les biomasses de saules « Contrôle » non irrigués et irrigués avec une « Dose 2 » ne présentent pas de différences significatives au sein même d'un temps de résidence. La biomasse de saules ayant subi une autohydrolyse de 30 minutes présente une perte de masse totale de 10 % alors que celle ayant passé 60 minutes perd 15 %. Lorsque le temps de résidence passe à 120 minutes, une perte totale de biomasse s'élève à 20 % pour les saules non irrigués et irrigués. Les trois temps de résidence ont un impact significatif sur la perte de masse de la biomasse et démontrent tous une différence les uns des autres.

3.3.1 Biomasse traitée (fraction solide)

3.3.1.1 Extractibles

Puisque le même protocole d'extraction a été utilisé pour chacune des analyses de composition, les teneurs en extractibles demeurent inchangés par rapport à la biomasse brute (Figure 3.8). Voici le graphique rapportant le retrait des métabolites secondaires sur les échantillons « Contrôle » et « Dose 2 » seulement et choisis pour l'évaluation de l'autohydrolyse avant le fractionnement.

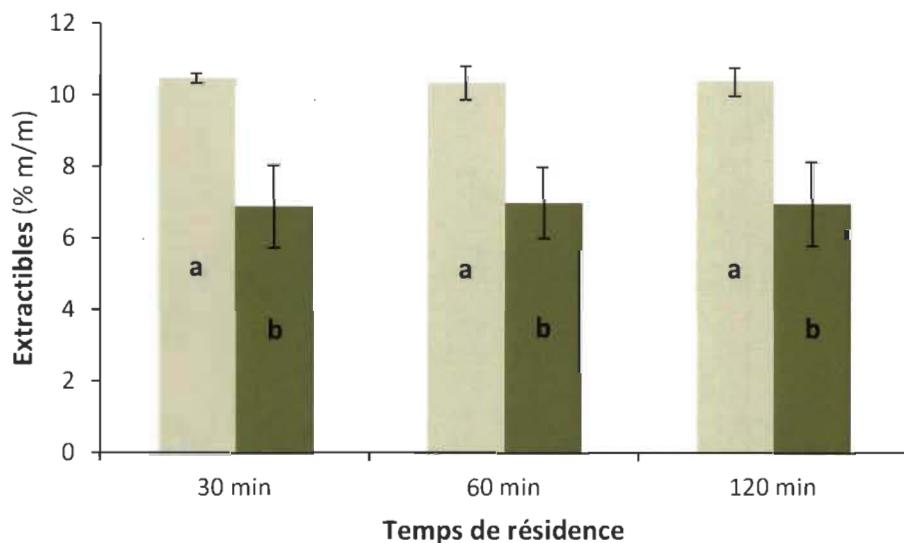


Figure 3.8 Teneurs en extractibles retirés avant l'autohydrolyse à l'eau.
● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

La biomasse de saules « Contrôle » non irrigués présente une teneur en extractibles de 10 % quel que soit le temps de résidence alors la biomasse de saules irrigués de type « Dose 2 » contient 7 % d'extractibles. Comme mentionné à la figure 3.2, des différences significatives s'observent entre la biomasse associée aux saules non irrigués et ceux irrigués avec des eaux usées primaires « Dose 2 ».

3.3.1.2 Hémicelluloses

Après l'autohydrolyse à l'eau, la proportion de ces sucres (xylane, galactane, arabinane et mannane) dans la biomasse résiduelle a diminué, parce qu'ils ont été en partie hydrolysés par l'eau grâce aux conditions de hautes températures et de fortes pressions.

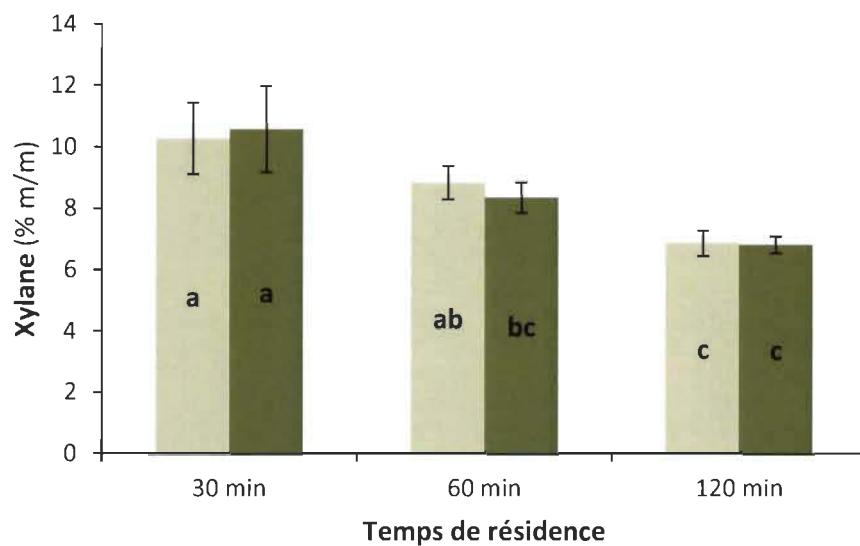


Figure 3.9 Teneurs en xylane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four. ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

La biomasse des saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes démontre une teneur en xylane de 10 % dans la biomasse post-autohydrolyse (Figure 3.9). La biomasse des saules irrigués et prétraitée avec un temps de résidence de 30 minutes illustre une teneur résiduelle de 11 %. Le temps de résidence (30 min) n'a pas eu d'effets significatifs selon le type d'échantillon. Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet de diminuer à 9 % le xylane dans la biomasse de saules résiduelle. Pour la biomasse résiduelle de type eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en xylane est passée à 8 %. Ceci ne provoque pas d'effets significatifs entre les deux groupes d'échantillons. Toutefois, la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires prétraitée à 60 minutes se distingue statistiquement d'un temps de

30 minutes, et ce, par rapport aux deux types d'échantillons. Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en xylane résiduel de 7 %, ce qui est la même valeur pour la biomasse de saules irrigués par des eaux usées primaires de type « Dose 2 ». Au sein de ce temps (120 min), aucune différence significative n'est observable entre les échantillons, mais ce temps se distingue nettement d'un temps de résidence de 30 minutes (2 échantillons) et de 60 minutes (« Contrôle » seulement).

La biomasse des saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes montre une teneur en galactane de 0,8 % dans la biomasse résiduelle (Figure 3.10).

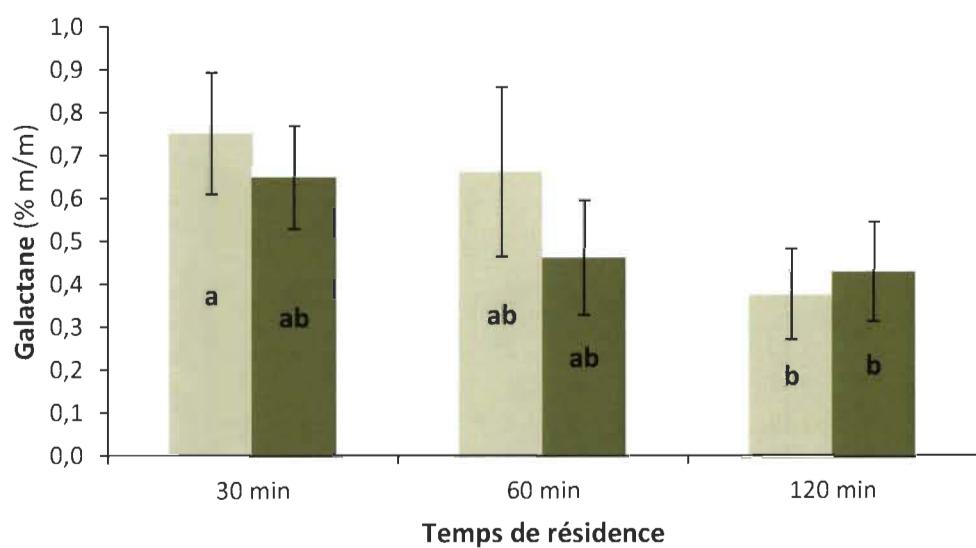


Figure 3.10 Teneurs en galactane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four. ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

La biomasse des saules irrigués et prétraitée avec un temps de résidence de 30 minutes renvoie une teneur résiduelle de 0,6 %. Le temps de résidence (30 min) n'a pas eu d'effets significatifs selon le type d'échantillon. Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet de diminuer à 0,7 % le galactane dans la biomasse résiduelle de saules. Pour la biomasse résiduelle de type eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur

en galactane est passée à 0,5 % avec un temps de résidence de 60 minutes. Ceci ne provoque pas d'effets significatifs entre les deux groupes d'échantillons. Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en galactane résiduel de 0,4 %, ce qui est la même valeur pour la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires de type « Dose 2 ». Au sein de ce temps (120 min), aucune différence significative n'est observable entre les échantillons, mais ce temps se distingue nettement d'un temps de résidence de 30 minutes appliqué à la biomasse de saules non irrigués.

Concernant l'arabinane, un retrait total de ces teneurs a été observé (Figure 3.11).

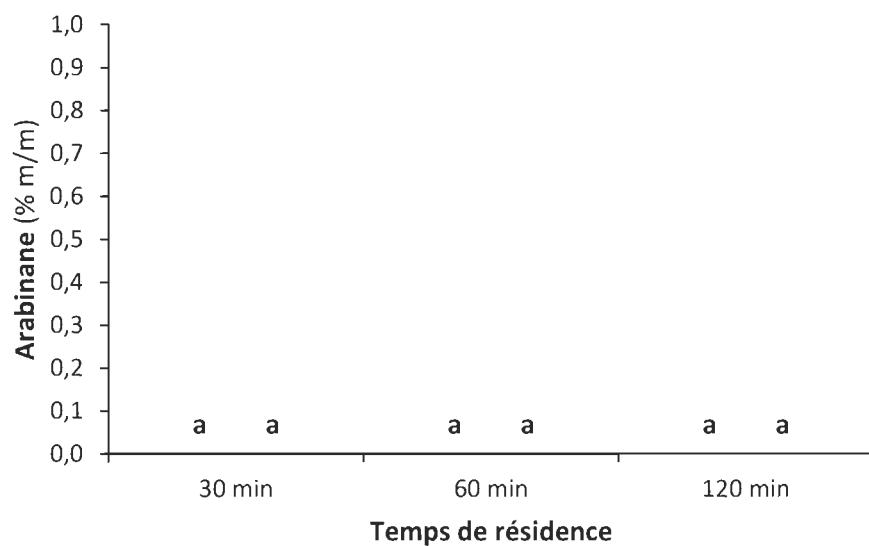


Figure 3.11 Teneurs en arabinane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four. ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

La biomasse des saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30, 60 et 120 minutes montre une teneur nulle en arabinane dans la biomasse résiduelle. L'effet est identique pour la biomasse de saules irrigués prétraitée avec un temps de résidence de 30, 60 et 120 minutes. Aucune différence significative ne peut être observée entre les temps de résidence puisqu'ils impactent tous de la même manière le retrait de l'arabinane dans la biomasse de saule.

Pour le mannane, l'autohydrolyse n'a pas eu d'impact sur la biomasse de saules non irrigués et irrigués (Figure 3.11).

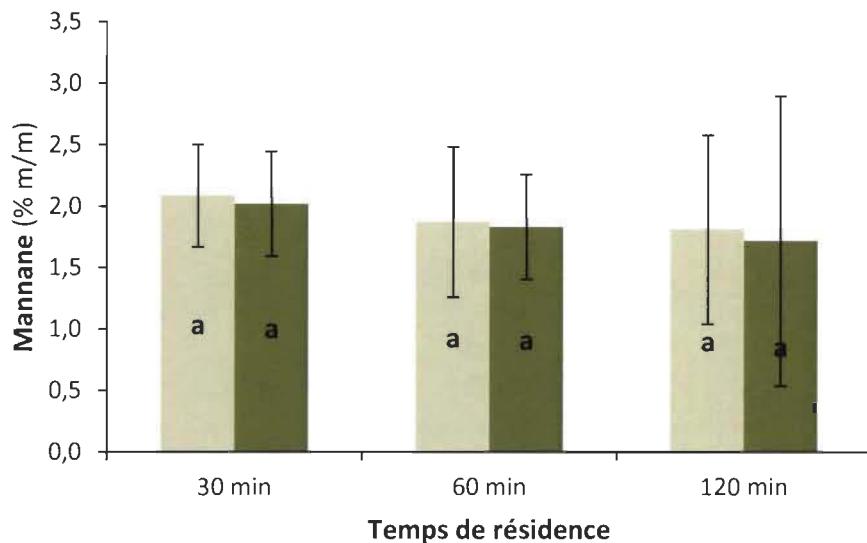


Figure 3.12 Teneurs en mannane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon le temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four. ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

La biomasse des saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes montre une teneur en mannane de 2,1 % dans la biomasse résiduelle. La biomasse des saules irrigués et prétraitée avec un temps de résidence de 30 minutes montre une teneur résiduelle de 2,0 %. Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet de diminuer à 1,9 % le mannane dans la biomasse résiduelle des saules non irrigués. Pour la biomasse résiduelle de type eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en mannane est passée à 1,8 % avec un temps de résidence de 60 minutes. Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en mannane résiduel de 1,8 %, alors que la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en mannane résiduel de 1,7 %. Fait à noter, aucune différence significative n'est observable entre les groupes et les temps de résidence.

3.3.1.3 Cellulose

En sachant que les sucres simples des hémicelluloses ont été analysés, les teneurs en glucane provenant de l'hydrolyse de la cellulose ont aussi été évaluées. La prochaine figure illustre les teneurs du glucane dans la biomasse résiduelle après l'autohydrolyse afin d'obtenir une mesure des contenus en cellulose.

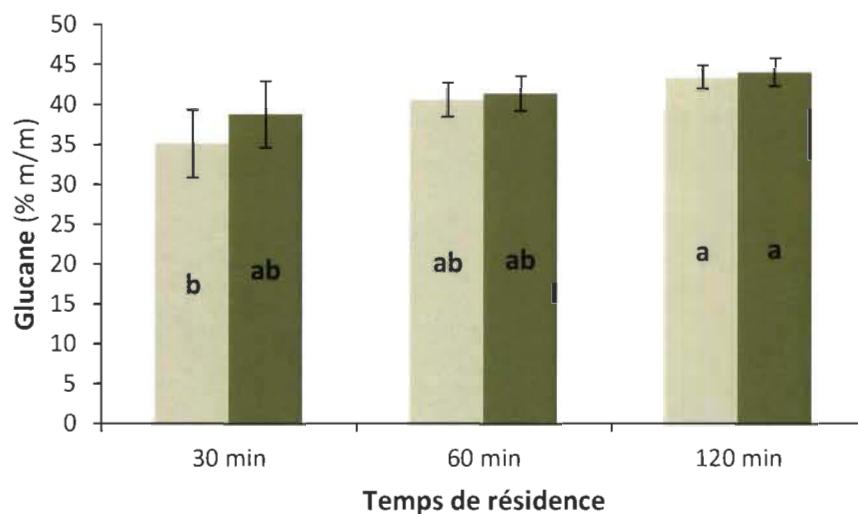


Figure 3.13 Teneurs en glucane dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four. ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

La biomasse des saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes dénote une teneur en glucane de 35 % dans la biomasse résiduelle. La biomasse des saules irrigués et prétraitée avec un temps de résidence de 30 minutes montre une teneur résiduelle de 39 %. Le temps de résidence (30 min) n'a pas eu d'effets significatifs sur le type d'échantillon (non irrigué contre irrigué). Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet d'augmenter à 41 % le glucane dans la biomasse résiduelle des saules non irrigués. Pour la biomasse résiduelle traitée avec les eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en glucane est aussi passée à 41 % avec un temps de résidence de 60 minutes. Ceci ne provoque pas aussi de différences significatives entre les deux groupes d'échantillons. Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en glucane résiduel de

43 %, alors que la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en glucane résiduel de 44 %. Cette augmentation du glucane dans les deux types de biomasse de saules n'est que significativement différente entre la biomasse de saules prétraitée 30 minutes (« Contrôle ») et la biomasse de saules prétraitée 120 minutes (« Contrôle » et « Dose 2 »).

3.3.1.4 Lignines

Deux types de lignines peuvent être analysés tels que vus précédemment avec les analyses de composition de la biomasse brute.

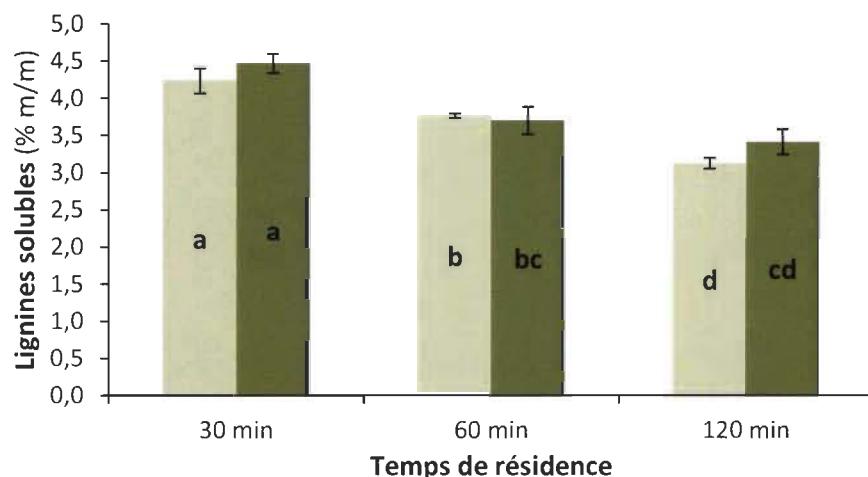


Figure 3.14 Teneurs en lignines solubles dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four. ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

La biomasse des saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes illustre une teneur en lignines solubles de 4,2 % dans la biomasse résiduelle. La biomasse de saules irrigués et prétraitée avec un temps de résidence de 30 minutes montre une teneur résiduelle en lignines solubles de 4,5 %. Le temps de résidence (30 min) n'a pas eu d'effets significatifs sur le type d'échantillon (non irrigué contre irrigué). Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet de diminuer à 3,8 % les lignines solubles dans la biomasse résiduelle des saules non irrigués. Pour la biomasse résiduelle de type eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en lignines solubles est

passée à 3,7 % avec un temps de résidence de 60 minutes. Ceci ne provoque pas aussi d'effets significatifs entre les deux groupes d'échantillons au sein même du temps de résidence (60 min). Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en lignines solubles résiduelles de 3,1 %, alors que la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en lignines solubles résiduelles de 3,4 %. Un temps de résidence de 120 minutes ne retire pas plus de lignines solubles dans la biomasse de saules non irrigués par rapport à ceux irrigués en eaux usées. Cependant, des différences majeures sont observables entre les temps de résidence. Un temps de résidence de 30 minutes, pour les deux groupes confondus, laisse significativement plus de lignines solubles dans la biomasse résiduelle qu'un temps de 60 minutes ou de 120 minutes. Un temps de résidence de 60 minutes (irrigué) et un temps de résidence de 120 minutes (irrigué) ne démontrent pas de différences significatives, alors qu'un temps de résidence de 60 minutes (non irrigué) solubilise moins de lignines solubles qu'un temps de résidence de 120 minutes (non irrigué et irrigué). Pour les lignines solubles, un temps de résidence de 120 minutes avec une biomasse de saules non irrigués laisse le moins de lignines solubles résiduelles dans la biomasse, et ce, pour tous temps et échantillons confondus. Le comportement est tout le contraire pour les lignines insolubles (Figure 3.15).

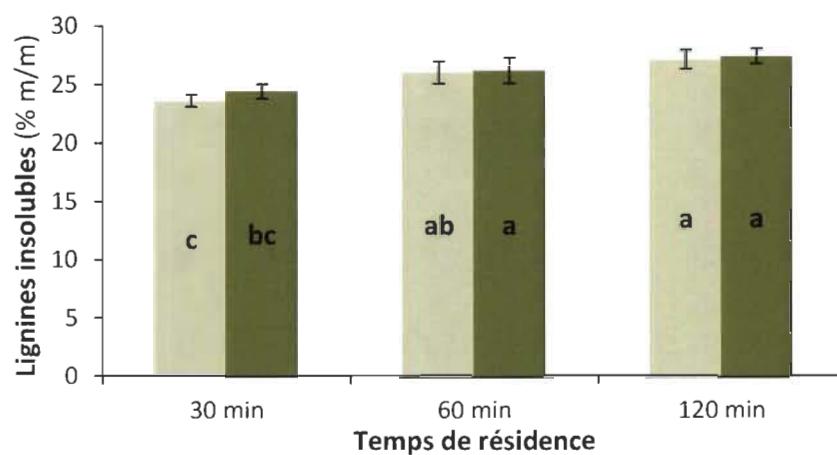


Figure 3.15 Teneurs en lignines insolubles dans la biomasse résiduelle à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four. ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

La biomasse de saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes illustre une teneur en lignines insolubles de 24 % dans la biomasse résiduelle. La biomasse de saules irrigués et prétraitée avec un temps de résidence de 30 minutes montre une teneur résiduelle de 24 %. Le temps de résidence (30 min) n'a pas eu d'effets significatifs sur le type d'échantillon (non irrigué contre irrigué). Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet d'augmenter à 26 % les lignines insolubles dans la biomasse résiduelle de saules non irrigués. Pour la biomasse résiduelle de type eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en lignines insolubles est passée à 26 % avec un temps de résidence de 60 minutes. Ceci ne provoque pas aussi d'effets significatifs entre les deux groupes d'échantillons au sein même du temps de résidence (60 min). Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en lignines insolubles résiduelles de 27 %, alors que la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en lignines insolubles résiduelles de 27 %. Un temps de résidence de 120 minutes ne retire pas plus de lignines insolubles dans la biomasse de saules non irrigués par rapport à ceux irrigués en eaux usées. Cependant, des différences majeures sont observables entre les temps de résidence. Un temps de résidence de 30 minutes (non irrigué et irrigué) est significativement plus bas en proportion par rapport au temps de résidence 60 minutes (irrigué) et 120 minutes (non irrigué et irrigué).

En résumé, l'autohydrolyse à l'eau entraîne une baisse significative des hémicelluloses et des lignines solubles dans la biomasse résiduelle. Cet effet a eu pour conséquence d'augmenter, relativement et de manière significative, la cellulose ainsi que des lignines insolubles dans la biomasse résiduelle.

3.3.2 Hydrolysats (fraction liquide)

Dans le but de valoriser au maximum la biomasse et ces coproduits issus des prétraitements, quelques molécules d'intérêt tel que le glucose, le xylose, le furfural, le 5-hydrométhylfurfural (HMF) ont été quantifiés.

3.3.2.1 Sucres hydrolysés

Les sucres hydrolysés sont notamment quelques sucres simples retrouvés dans l'hydrolysat (fraction liquide) du prétraitement. Après une autohydrolyse, ces sucres sont majoritairement le glucose et le xylose provenant des hémicelluloses (Ghislain *et al.*, 2020; Stevanovic, 2016). Bien que d'autres sucres soient présents, ce sont ces derniers qui représentent le plus fort intérêt économique.

Une première quantification s'est portée sur le xylose issu des hémicelluloses hydrolysées de la biomasse et solubilisé dans l'hydrolysat (Figure 3.16).

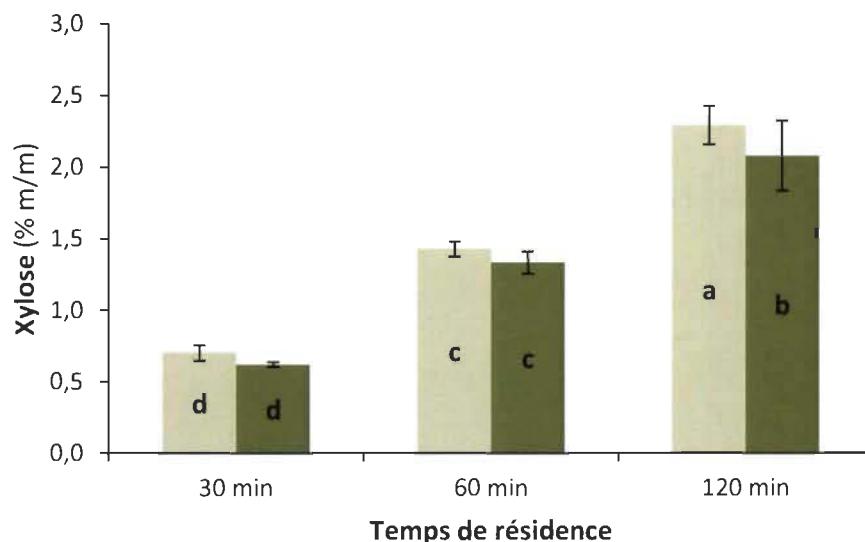


Figure 3.16 Teneurs en xylose dans les hydrolysats à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.
● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

L'hydrolysat des saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes illustre une teneur en xylose de 0,7 %. L'hydrolysat des saules irrigués et prétraité avec un temps de résidence de 30 minutes montre une teneur hydrolysée de 0,6 %. Le temps de résidence (30 min) n'a pas eu d'effets significatifs sur le type d'échantillon (non irrigué contre irrigué). Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet d'augmenter à 1,4 % le xylose dans l'hydrolysat issu de saules non irrigués.

Pour la biomasse provenant des saules irrigués en eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en xylose est passée à 1,3 % avec un temps de résidence de 60 minutes. Ceci ne provoque pas aussi d'effets significatifs entre les deux groupes d'échantillons au sein même du temps de résidence (60 min). Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en xylose hydrolysé de 2,3 %, alors que la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en xylose hydrolysé de 2,1 %. Un temps de résidence de 120 minutes favorise l'hydrolyse du xylose dans la biomasse de saules non irrigués par rapport à ceux irrigués en eaux usées. De plus, les temps de résidence présentent tous une différence significative entre eux, et ce, tout type d'échantillons confondus, mais pas nécessairement au sein même d'un temps de résidence.

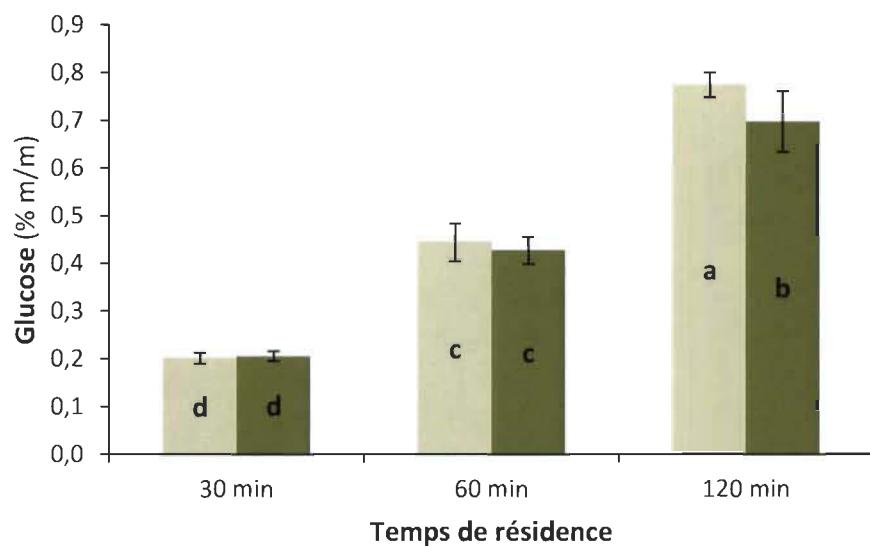


Figure 3.17 Teneurs en glucose dans les hydrolysats à la suite de l'autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.
● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

Pour ce qui est du glucose, son comportement est identique à celui du xylose (Figure 3.17). L'hydrolysat des saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes illustre une teneur en glucose de 0,2 %. L'hydrolysat des saules irrigués et prétraité avec un temps de résidence de 30 minutes montre une teneur hydrolysée de 0,2 %. Le temps de résidence (30 min) n'a pas eu d'effets significatifs sur

le type d'échantillon (non irrigué contre irrigué). Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet d'augmenter à 0,4 % le glucose dans l'hydrolysat issu des saules non irrigués. Pour la biomasse provenant des saules irrigués en eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en glucose est passée à 0,4 % avec un temps de résidence de 60 minutes. Ceci ne provoque pas aussi d'effets significatifs entre les deux groupes d'échantillons au sein même du temps de résidence (60 min). Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur de 0,7 % en glucose hydrolysé, alors que la biomasse de saules irrigués en eaux usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en glucose hydrolysé de 0,7 %. Un temps de résidence de 120 minutes favorise l'hydrolyse du glucose, tout comme le xylose, dans la biomasse de saules non irrigués par rapport à ceux irrigués en eaux usées. De plus, les temps de résidence sont tous significativement différents les uns des autres.

3.3.2.2 Produits de dégradation

Les produits de dégradation des sucres analysés sont le furfural et le 5-hydroxyméthylfurfural (HMF). Ces molécules présentent un intérêt économique intéressant de par leur nature à titre de molécule plateforme particulièrement prisée dans le domaine de la chimie organique. Une première évaluation du furfural, un produit de dégradation des sucres C5 en particulier (*e.g.* xylose), a été effectuée par HPLC (Figure 3.17).

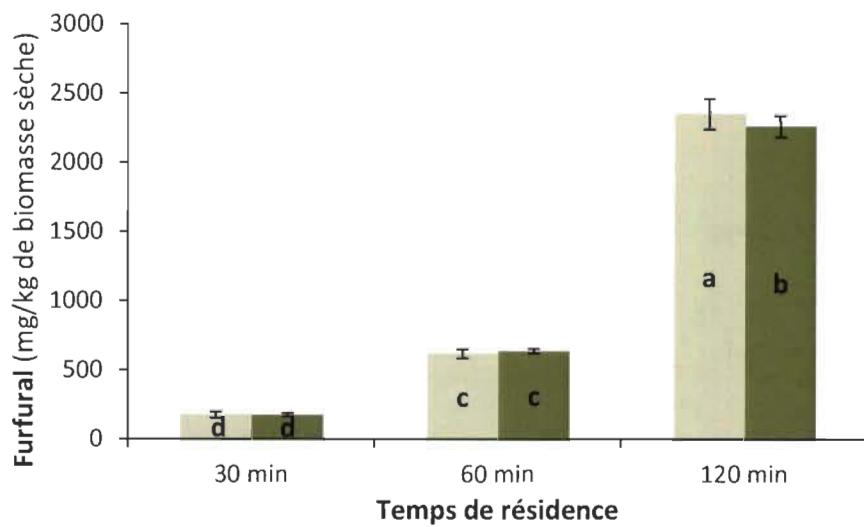


Figure 3.18 Teneurs en furfural dans les hydrolysats à la suite de l’autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.
● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

L’hydrolysat de saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes illustre une teneur en furfural de 175 mg/kg. L’hydrolysat de saules irrigués et prétraité avec un temps de résidence de 30 minutes montre plutôt une teneur de 171 mg/kg. Le temps de résidence (30 min) n’a pas eu d’effets significatifs sur le type d’échantillon (non irrigué contre irrigué). Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet d’augmenter la teneur en furfural à 617 mg/kg dans l’hydrolysat issu de saules non irrigués. Pour la biomasse provenant de saules irrigués en eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en furfural est passée à 635 mg/kg avec un temps de résidence de 60 minutes. Ceci ne provoque pas aussi d’effets significatifs entre les deux groupes d’échantillons au sein même du temps de résidence (60 min). Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en furfural de 2353 mg/kg, alors que la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en furfural de 2261 mg/kg. Un temps de résidence de 120 minutes favorise la formation de furfural dans la biomasse de saules non irrigués par rapport à ceux irrigués en eaux usées. De plus, les temps de résidence présentent tous une différence significative entre eux, et ce, pour tout type d’échantillons confondus, mais pas entre les traitements d’irrigation au sein d’un temps de résidence.

Le HMF, produit de dégradation du glucose, est une molécule tout aussi valorisable que le furfural. La prochaine figure (Figure 3.19) illustre les concentrations de HMF formé selon les temps de résidence par rapport à la quantité de biomasse utilisée.

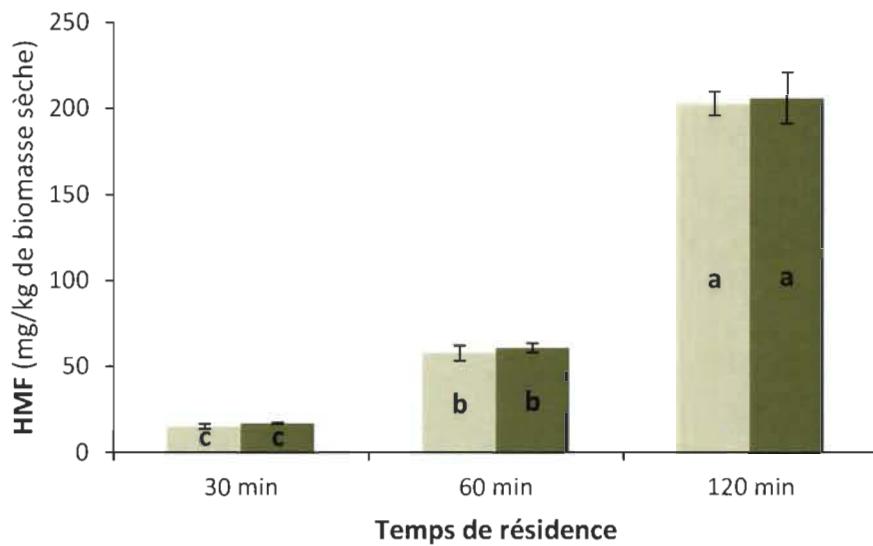


Figure 3.19 Teneurs en HMF dans les hydrolysats à la suite de l’autohydrolyse selon les temps de résidence (30, 60 et 120 minutes) dans le four.
● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

L’hydrolysat de saules « Contrôle » non irrigués avec un temps de résidence de 30 minutes illustre une teneur en HMF de 15 mg/kg. L’hydrolysat de saules irrigués et prétraité avec un temps de résidence de 30 minutes montre plutôt une teneur de 17 mg/kg. Le temps de résidence (30 min) n’a pas eu d’effets significatifs sur le type d’échantillon (non irrigué contre irrigué). Un temps de résidence de 60 minutes a eu pour effet d’augmenter la teneur en HMF à 58 mg/kg dans l’hydrolysat issu de saules non irrigués. Pour la biomasse provenant de saules irrigués en eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en HMF est passée à 60 mg/kg avec un temps de résidence de 60 minutes. Ceci ne provoque pas aussi d’effets significatifs entre les deux groupes d’échantillons au sein même du temps de résidence (60 min). Pour un temps de résidence de 120 minutes, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en HMF de 203 mg/kg, alors que la biomasse de saules irrigués avec des eaux

usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en HMF de 206 mg/kg. Un temps de résidence de 120 minutes ne favorise pas davantage la formation de HMF dans la biomasse de saules non irrigués par rapport à ceux irrigués en eaux usées. De plus, les temps de résidence présentent tous une différence significative entre eux, et ce, pour tout type d'échantillons confondus.

3.4 Prétraitement : Cuisson NaOH

La deuxième étape de prétraitement consistait en une cuisson NaOH dans le but d'isoler davantage la cellulose. Pour ce faire, trois concentrations en NaOH (1,2; 2,5 et 5,2 % [m/v]) ont été testées. Afin de bien comparer les possibles effets de cette deuxième étape de prétraitement, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués et irrigués de type « Dose 2 », après leur passage en autohydrolyse, a été privilégiée pour l'atteinte des objectifs.

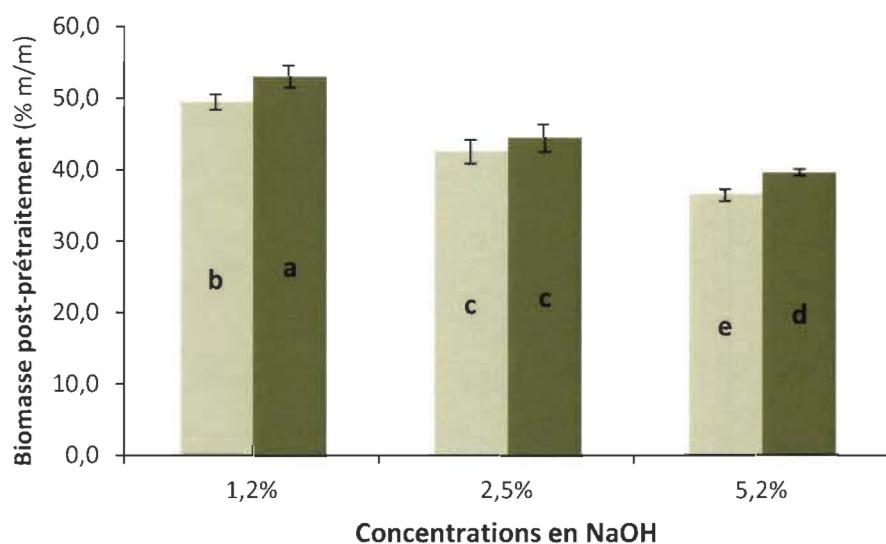


Figure 3.20 Biomasse post-prétraitement (après l'extraction des extractibles, l'autohydrolyse à l'eau pendant 120 minutes et l'hydrolyse couplée au catalyseur NaOH) selon trois concentrations (1,2; 2,5 et 5,2 %). ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

Comme la biomasse à cette étape-ci n'est pas caractérisée, il est impossible d'affirmer qu'elle contient uniquement de la cellulose. C'est pour cette raison que le terme biomasse post-prétraitement est utilisé. La biomasse de saules non irrigués et hydrolysée à 1,2 % NaOH présente une biomasse post-prétraitement de 49 % de sa masse initiale alors que ceux irrigués en eaux usées présentent une biomasse de 53 % de sa masse initiale. Les biomasses de saules non irrigués « Contrôle » et ceux irrigués en eaux usées « Dose 2 » sont différentes significativement au sein de la même concentration en NaOH. La biomasse de saules non irrigués et irrigués traitée avec une concentration en NaOH de 2,5 % ne montre pas de différences significatives. De plus, elles démontrent respectivement une proportion en biomasse post-prétraitement de 43 et 44 % de leurs masses initiales. Lorsque la concentration en NaOH passe à 5,2 %, la biomasse post-prétraitement diminue à 36 % pour la biomasse de saules non irrigués et 39 % pour la biomasse de saules irrigués. Au sein même de cette concentration, les deux types de biomasse sont significativement différents. Si l'on compare les concentrations en NaOH selon un type de biomasse ou non, des différences significatives s'observent.

3.4.1 Hydrolysats

3.4.1.1 Lignines

Les lignines, présentes dans les liqueurs noires (hydrolysats) obtenues après l'hydrolyse avec NaOH, ont aussi été quantifiées. Les coproduits à base de lignines sont diversifiés et permettraient de valoriser les lignines provenant du saule dans plusieurs secteurs économiques. La figure suivante (Figure 3.21) illustre alors la quantité de lignines récupérées dans la liqueur noire selon les différentes concentrations de NaOH utilisées.

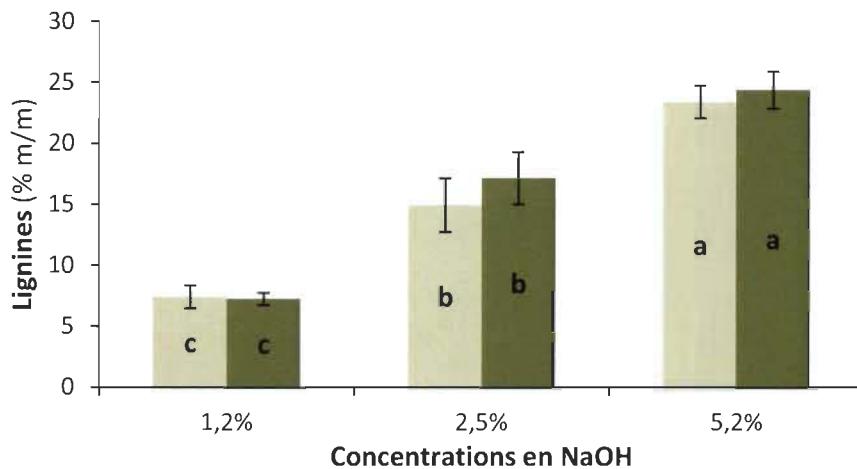


Figure 3.21 Teneurs massiques en lignines récupérées dans les hydrolysats à la suite de l’hydrolyse couplée au catalyseur NaOH selon trois concentrations (1,2; 2,5 et 5,2 %). ● = Contrôles, ● = Eaux usées « Dose 2 ».

L’hydrolysat de saules « Contrôle » non irrigués et traités avec une concentration de 1,2 % montre une teneur en lignines de 7 %. L’hydrolysat de saules irrigués et prétraité avec une concentration de 1,2 % en NaOH montre aussi une teneur de 7 %. Cette concentration (1,2 %) n’a pas eu d’effets significatifs sur le type d’échantillon (non irrigué contre irrigué). Une concentration de 2,5 % a eu pour effet d’augmenter la teneur en lignines à 15 % dans l’hydrolysat issu de saules non irrigués. Pour la biomasse provenant de saules irrigués en eaux usées primaires « Dose 2 », la teneur en lignines est passée à 17 % avec cette même concentration (2,5 %). Cette dernière concentration (2,5 %) ne provoque pas aussi d’effets significatifs entre les deux groupes d’échantillons. Pour une concentration de 5,2 %, la biomasse de saules « Contrôle » non irrigués détient une teneur en lignines de 23 %, alors que la biomasse de saules irrigués avec des eaux usées primaires de type « Dose 2 » présente une teneur en lignines de 24 %. Une concentration de 5,2 % en NaOH ne favorise pas davantage le retrait de lignines de la biomasse de saules non irrigués par rapport à ceux irrigués en eaux usées. De plus, les différentes concentrations présentent toutes une différence significative entre elles, et ce, pour tout type d’échantillons confondus.

Afin d’avoir un aperçu général de la structure des lignines récupérées, une analyse en infrarouge a été faite sur les lignines précipitées et séchées (Figure 3.22).

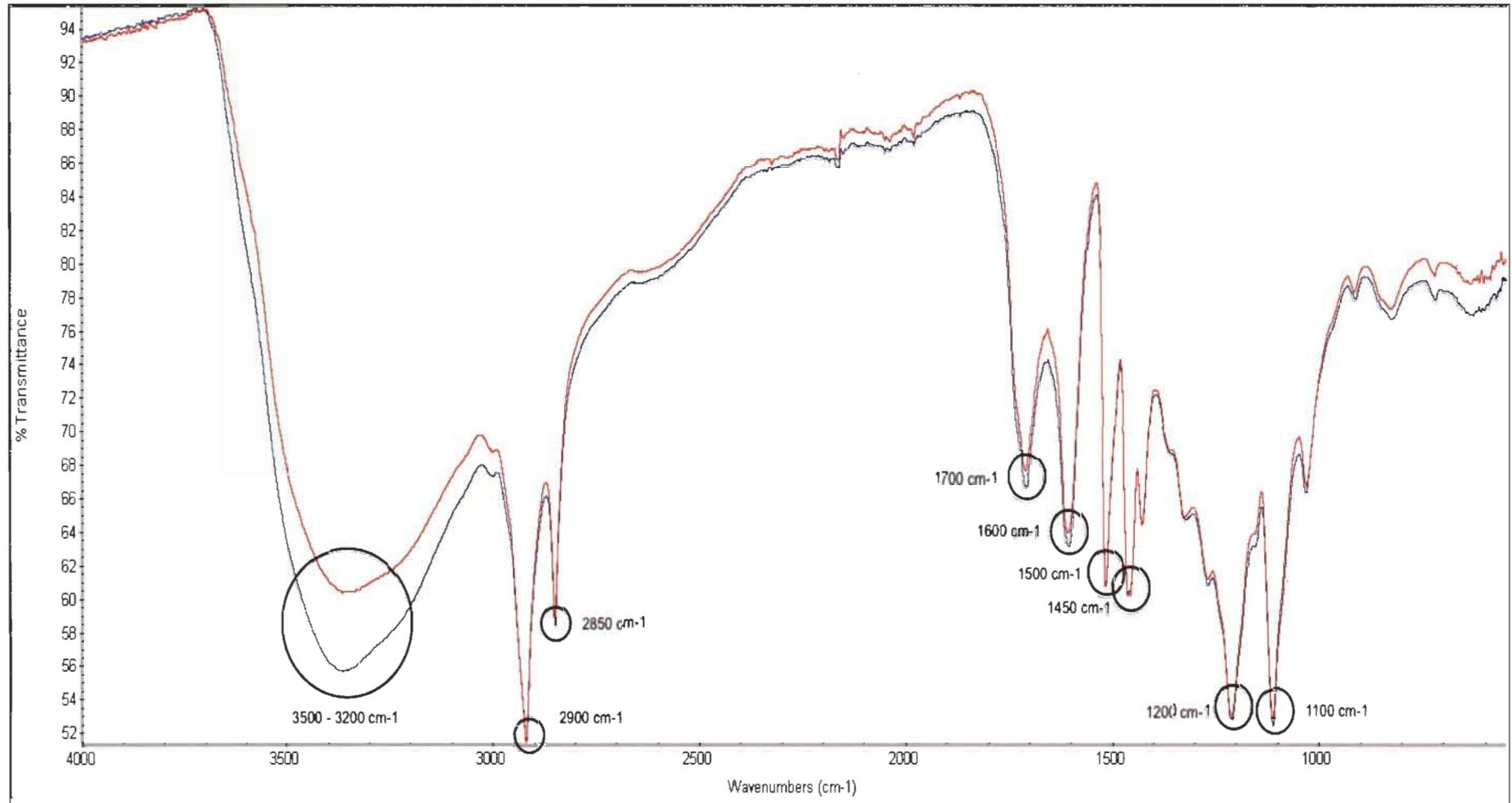


Figure 3.22 Spectres infrarouges de lignines récupérées provenant des liqueurs noires (hydrolysats) à une concentration de 5,2 % en NaOH. — = Contrôle, — = Eaux usées dose.

Les spectres infrarouges révèlent quelques informations se rapportant à la structure des lignines. D'après les tables spectrales en infrarouge de Milipore Sigma, la figure ci-haut illustre plusieurs liaisons comme O-H, C-H, C-C et C-O. Le premier pic, situé entre 3500 et 3200 cm⁻¹, correspond à un comportement d'elongation intermoléculaire d'une liaison O-H (3550 – 3200 cm⁻¹). Le deuxième pic correspondant à 2900 cm⁻¹ représente les elongations intramoléculaires des liaisons O-H (3000-2700 cm⁻¹). Le troisième pic autour de 2850 cm⁻¹ appartient aux elongations des liaisons des C-H des alcanes (3000-2840 cm⁻¹). Le quatrième pic (1700 cm⁻¹) représente les déformations des liaisons C-H des composés aromatiques (2000-1650 cm⁻¹). Le cinquième pic, localisé à 1600 cm⁻¹, correspond à l'elongation des liaisons C=C d'un système conjugué (1650-1600 cm⁻¹) comme celles retrouvées dans les cycles aromatiques. Le sixième pic (1500 cm⁻¹) correspond à une elongation du noyau aromatique (1550-1500 cm⁻¹). Le septième pic à 1450 cm⁻¹ serait une déformation des liaisons C-H (1450 cm⁻¹) appartenant aux groupes méthyles des alcanes. Le huitième pic, correspondant à 1200 cm⁻¹, et le neuvième pic, situé à 1100 cm⁻¹, se rapportent aux elongations de type C-O des éthers-oxydes (1275-1200 cm⁻¹ et 1075-1020 cm⁻¹) en présence d'un noyau aromatique. Aucun pic caractéristique ne se distingue entre les deux traitements. Le spectre des lignines des saules « Contrôle » et celui des saules irrigués sont identiques. Cependant, en ce qui concerne l'intensité, le premier (3500 et 3200 cm⁻¹), le quatrième (1700 cm⁻¹) et le cinquième pic (1600 cm⁻¹) sont plus intenses avec les saules irrigués par rapport à ceux non irrigués (« Contrôle »). Aucune conclusion ne peut être tirée de ces pics puisqu'aucune étude statistique n'a été faite sur ces résultats.

CHAPITRE IV

DISCUSSIONS

Le présent projet avait pour but d'explorer les différentes techniques de prétraitement de la biomasse afin de les appliquer à une biomasse de saule issu d'un processus de phytoremédiation d'eaux usées primaires municipales.

Trois hypothèses se rattachant à l'irrigation des PSCR avec des eaux usées primaires voulaient tester que ce type d'irrigation :

- 1) Augmente la concentration en hémicelluloses, cellulose et extractibles.
- 2) Diminue les concentrations en lignines relativement à l'augmentation des hémicelluloses et de la cellulose.
- 3) Augmente les concentrations en polyphénols dans les écorces de saule.

4.1 Impact des traitements

L'irrigation d'une plantation de saules avec des eaux usées a augmenté de façon importante la biomasse produite, c'est-à-dire d'un facteur 1,5 (première année) et d'un facteur 2 (deuxième année) entre les saules non irrigués et ceux irrigués en eaux usées. Jerbi *et al.* (2020) expliquent que l'augmentation significative de la biomasse est intimement liée aux changements physiologiques et morphologiques des saules induits par les différentes conditions d'irrigation. Les auteurs rapportent notamment qu'en irriguant les arbres avec les eaux usées, les saules réagissent en augmentant leur assimilation en CO₂, leur conductance stomatique, leur index stomatique, leur contenu en chlorophylle et leur surface foliaire. Ces différents changements entraînent une augmentation de la croissance générale de l'arbre ainsi que de sa biomasse. Ce résultat est en accord avec d'autres projets rapportés dans la littérature.

Dimitriou et Aronsson (2010) ont aussi observé que la biomasse totale augmentait d'un facteur 2 lorsque les saules étaient irrigués avec des eaux usées. Bien que ce modèle expérimental faisant appel aux plantations de saules en rotation ait été accompli en Europe (Suède), les résultats de cette présente étude démontrent aussi une concordance avec celle de 2010, et ce, malgré des conditions de croissance (climat, géologie, etc.) typiques du Québec.

Fabio et Smart (2018) rapportent aussi via une revue de la littérature que l'irrigation des saules par des eaux usées permettait une augmentation de 61 % de la biomasse totale. Ceci soutient alors les résultats obtenus par l'équipe de M. Jerbi.

4.2 Analyses de composition de la biomasse brute

Les valeurs obtenues pour les différentes composantes de la biomasse sont comparables à la littérature.

Tableau 4.1
Composition brute de saule selon le cultivar

Espèce	Extractibles (%)	Glucane (%)	Xylane (%)	Galactane (%)	Arabinane (%)	Mannane (%)	Lignines (%)	Source
<i>S. miyabeana SX67 (contrôle)</i>	10,5 ± 0,3	37,9 ± 2,5	13,4 ± 1,7	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,9 ± 0,5	30,6 ± 0,4	Cette étude
<i>S. miyabeana</i>	12	36	13	3	3	2	24	(Ray <i>et al.</i> , 2012)

Dans le cas du cultivar *S. miyabeana SX67*, utilisé dans ce présent projet, les valeurs se rapprochent du *S. miyabeana* « shrubby willow ». Toutefois, les différences pourraient être attribuables au cultivar ainsi qu'à l'environnement dans lequel la biomasse a évolué ainsi que les variations expérimentales.

Les différences observables seraient liées aux conditions d'irrigation des saules. Elles peuvent être expliquées par la charge en azote (D1 : 370 et D2 : 580 kg N ha⁻¹ an⁻¹)

et en phosphore (D1 : 37 et D2 : 58 kg P ha⁻¹ an⁻¹) contenu dans les eaux usées primaires (Lachapelle-Trouillard, 2017). Considérant que la « Dose 1 » et « Dose 2 » apportaient une charge supplémentaire en azote et en phosphore au saule par rapport au « Contrôle » et à l’« Eau potable », ces nutriments essentiels ont stimulé la croissance des saules et certaines composantes structurales du bois. L’azote dans les eaux usées entraîne une plus grande concentration en chlorophylle dans les saules (Leghari *et al.*, 2016). De plus, l’accessibilité à une plus grande proportion en phosphore permet une production plus importante d’entités moléculaires énergétiques comme l’ATP (Schachtman *et al.*, 1998). La combinaison de ces deux phénomènes a pour conséquence d’augmenter l’activité photosynthétique (Johnson, 2016) ce qui augmente la quantité de carbone fixé sous forme de sucres tel que le glucose, la sous-unité de la cellulose. Comme la composante cellulosique augmente avec l’apport en azote et en phosphore, le bois de cœur devient alors plus important en proportion. Donc, on observe alors un changement de la morphologie des saules, c’est-à-dire des diamètres plus élevés et des proportions en bois de cœur plus élevées avec les irrigations en eaux usées primaires contrairement à ceux non irrigués ou ceux irrigués avec l’eau potable. Ceci induit un ratio écorce-bois de cœur réduit. C’est ce qui pourrait, en partie, expliquer la diminution en extractibles observée pour les irrigations « Dose 1 » et « Dose 2 » par rapport aux « Contrôle » et « Eau potable ».

Bien que ces différences soient notables, cette stimulation de la production en biomasse n’a pas eu d’impact mesurable sur la production des hémicelluloses et des lignines. La somme des composantes atteint 97 % de la biomasse totale. Le 3 % résiduel est en accord avec la littérature ($\pm 8\%$) (Ray *et al.*, 2012). Cet écart est attribuable aux entités moléculaires qui n’ont pas été quantifiées lors des analyses de composition, à l’humidité ainsi qu’aux incertitudes expérimentales. Ces entités peuvent être des produits de dégradation lors des analyses de composition. Elles peuvent aussi être des acides organiques se retrouvant sur les chaînes latérales des hémicelluloses. Tous les acides gras, molécules structurantes des membranes cellulaires, et les protéines n’ont pas été quantifiés par cette approche, mais devraient être pris en compte dans le bilan.

4.3 Prétraitement : Autohydrolyse

L'impact de la première étape de l'autohydrolyse à l'eau a été de retirer 20 % de la masse de l'échantillon. Therasme *et al.* (2018) rapportent qu'ils ont retiré 23 % de la masse de leur échantillon correspondant au genre *Salix* et au cultivar *SX64*. Considérant les quelques différences techniques et génétiques, les résultats restent similaires avec ceux obtenus ici.

Les extractibles (Figure 3.8) ne présentent pas de changement par rapport aux résultats exposés en figure 3.2. Tel qu'expliqué dans la méthodologie, deux types d'échantillons ont été sélectionnés, « Contrôle » et « Dose 2 ». Avant d'être prétraités par une autohydrolyse à l'eau, ces derniers ont été lavés de leurs extractibles afin de ne pas sous ou surévaluer les autres composantes structurales à la suite du prétraitement. Cependant, d'autres extractibles se forment au cours des différentes étapes de fractionnement et ces derniers n'ont pas été quantifiés.

Concernant les sucres hémicellulosiques, plusieurs différences ont été observées. Le xylane, le galactane et l'arabinane ont vu leurs concentrations diminuées, pour la plupart, entre 30 et 120 minutes tandis que les concentrations du mannane ont été stables, peu importe le temps de prétraitement. Comme vu dans la revue de la littérature, plusieurs types de chaînes hémicellulosiques coexistent au sein de la biomasse : glucuronoxylanes, glucomannanes, galactomannanes et xyloglucanes (Ghislain *et al.*, 2020). Ces chaînes sont constituées soient : d'acides glucuroniques, de groupements acétyles, de galactoses, de xyloses ou d'arabinoses sur leurs chaînes latérales. En chaînes principales, elles seront pour la plupart constituées soient de mannoses, de glucoses ou de xyloses. Ainsi, les diminutions observées en xylane, galactane et arabinane se rapportent à l'hydrolyse de ces sucres en chaîne latérale puisqu'elles sont plus accessibles. La diminution en concentration du xylane dans la biomasse a d'ailleurs été observée par l'équipe de Kucerova *et al.* (2020). Ils expliquent même l'impact des différents paramètres qui peuvent changer l'hydrolyse du xylose ainsi que les changements structuraux de la cellulose. Une grande partie de l'hydrolyse repose sur l'acidification du milieu par les groupements acétyles et par des constantes se rapportant

à la cinétique chimique telle que Liu (2010) l'explique. Pour le mannane, son comportement dans le prétraitement s'explique possiblement par sa localisation dans les chaînes principales des hémicelluloses. Comme il est lié en C1 et C6, qu'il a des groupements hydroxydes et que certaines chaînes latérales peuvent contribuer à un certain encombrement stérique, il est difficile d'hydrolyser ces sucres hémicellulosiques. Ainsi, ces derniers ne présentent aucune différence significative entre les temps de résidence.

Pour la cellulose, la tendance a été inversée, c'est-à-dire qu'on observe plutôt une augmentation de ses concentrations dans la biomasse. Comme le prétraitement vise à hydrolyser les sucres, il est normal que pour une masse donnée les proportions relatives de chaque composante changent au sein de la biomasse. De plus, les glucoses sont pour une très grande majorité dans les chaînes principales des hémicelluloses et de la cellulose. Comme précédemment expliquées, les chaînes latérales sont plus facilement hydrolysées que les chaînes principales. Donc, l'augmentation du glucane dans la biomasse est en réponse à l'hydrolyse des sucres hémicellulosiques (xylane, galactane, arabinane). De même, l'augmentation de la biomasse produite a réduit la proportion du bois mature, plus riche en lignines, augmentant donc la proportion relative de la cellulose.

Enfin, quelques différences ont aussi été observées avec les concentrations en lignines. Les lignines solubles sont différentes des lignines insolubles. Les lignines solubles sont constituées d'unités syringiques ainsi que plusieurs produits de dégradation. (Yasuda *et al.*, 2001) Les unités syringiques, provenant de l'alcool sinapylque, semblent faire davantage de liaisons éther-oxyde (liaisons β – O – 4) au sein des lignines d'après les informations retrouvées dans le chapitre de Ghislain *et al.* (2020). Comme le prétraitement génère un milieu acide, les unités syringiques semblent donc plus vulnérables aux attaques nucléophiles engendrées par les ions acétates. Ces attaques permettent du même coup leur libération de la structure ligneuse et leur solubilisation. Pour les lignines insolubles ou les lignines de Klason, on retrouve alors plutôt les unités guaiacyles, provenant des alcools *p*-coumarylique et coniférylique,

qui ont la capacité de faire des liaisons éther-oxyde, mais aussi des liaisons C-C rendant leur dépolymérisation plus laborieuse.

Pour l'augmentation des lignines insolubles dite de Klason, elle s'explique de la même manière que la cellulose. Pour une masse donnée, la méthode permet de déterminer les proportions relatives à chaque composante structurale de la biomasse restante. Ainsi, puisque les prétraitements affectent à la fois les sucres hémicellulosiques et les lignines solubles, les autres composantes non affectées par le prétraitement contribueront inversement en masse pour celles affectées lors de la pesée pour les analyses.

Dans le cas de l'autohydrolyse à l'eau, un temps de résidence de 120 minutes démontre une plus grande efficacité pour fragmenter la biomasse de saules.

4.3.1 Hydrolysats

4.3.1.1 Sucres hydrolysés

Les concentrations en xylose semblent être légèrement plus élevées avec les saules « Contrôle » qu'avec la « Dose 2 » dans les hydrolysats. D'ailleurs, une différence significative s'observe avec un temps de résidence de 120 minutes entre les deux types d'échantillons. Les concentrations en xylose et glucose s'expliquent par leur emplacement dans les chaînes hémicellulosiques. Comme les concentrations en xylose et en glucose sont significativement plus élevées avec le « Contrôle », c'est qu'il y a plus d'hydrolyse. S'il y a plus d'hydrolyse, c'est qu'il y a aussi une plus grande accessibilité de ces sucres. Comme discuté précédemment au sujet de l'accessibilité de ces sucres qui provenait essentiellement de leur présence dans les chaînes latérales rattachées aux chaînes principales des hémicelluloses. Cela signifierait que les hémicelluloses des saules « Contrôle » détiendraient davantage de chaînes latérales que les saules « Dose 2 ».

Concernant la différence entre les concentrations en xylose et en glucose dans leur globalité, elle est expliquée simplement par la probabilité de retrouver des unités de xylose ou de glucose en chaîne latérale. D'après Ghislain *et al.* (2020), les saules, faisant partie des feuillus (hardwood), sont constitués majoritairement de xyloglucanes. Ainsi, bien que les saules détiennent des xylanes comme chaînes principales, les xyloglucanes sont les chaînes ramifiées fournissant la majorité des unités de xylose et les quelques unités de glucose issues d'une dégradation partielle de ces mêmes chaînes et peut-être même légèrement de la cellulose même si elle est grandement plus récalcitrante.

S l'on compare les résultats à la littérature, d'après Kučerová *et al.* (2018), les teneurs en glucose dans les hydrolysats passent d'environ 700, à 800 et puis à 1200 mg/L pour des temps de 30, 60 et 120 minutes d'autohydrolyse à l'eau. Dans le cas du xylose, les concentrations passent d'environ 200, à 600 et puis à 1200 mg/L. Les valeurs du xylose s'y approchent, mais les valeurs du glucose sont beaucoup plus faibles. La dégradation des échantillons pourrait être une cause de cette différence. L'espèce aussi peut changer les valeurs des concentrations sans oublier la technique qui est légèrement différente. Malgré tout, les valeurs sont comparables aux valeurs obtenues ici.

Bien que cette méthode ait pu fournir quelques éléments de réponse, elle contient ses propres limites. La quantification des sucres par voie spectrophotométrique est depuis longtemps remplacée par des méthodes plus précises et sensibles. La méthode employée est d'ailleurs plutôt considérée comme semi-quantitative. La réaction utilisant l'*O-Toluïdine* fait intervenir des équilibres organiques qui précipitent la lecture, puisque la perte de coloration dans le temps est possible. De plus, elle n'est pas sélective. L'*O-Toluïdine* attaque sans sélectivité tous les sucres réducteurs. Seule, la longueur d'onde de chacun des sucres permet leur quantification possible. Pour une meilleure quantification, la chromatographie ionique couplée à un détecteur ampérométrique semble être une méthode plus sensible et plus stable pour ce genre d'analyses.

4.3.1.2 *Produits de dégradation*

Le comportement du furfural et du HMF suit la même tendance que leur sucre respectif, c'est-à-dire le xylose et le glucose. La différence observée avec un temps de résidence de 120 minutes avec le furfural s'explique notamment par la concentration moins élevée de xylose dans les hydrolysats initialement. Dans le cas du HMF, les temps de résidence démontrent des différences entre eux, mais pas entre les types d'échantillons. Cela pourrait s'expliquer par le mécanisme réactionnel de formation du HMF.

D'après Steinbach et al. (2017), le mécanisme réactionnel pour chacune de ces molécules est différent. Pour former du furfural, le xylose subit une étape de déshydratation. Dans le cas du HMF, le glucose subit une première étape de déshydratation pour se transformer en fructose, puis le fructose est lui aussi déshydraté pour former à son tour le HMF. Cette étape intermédiaire peut avoir une influence directe sur la quantification du HMF et sur la représentation statistique des teneurs. Ainsi, cela pourrait expliquer les petites différences observées entre le furfural et le HMF tant au niveau des teneurs que de la tendance que prennent les teneurs lorsque les temps de résidence augmentent.

Globalement, les teneurs en furfural sont nettement supérieures au HMF. Cela s'explique par la disponibilité du réactif (H^+) dans la réaction de déshydratation. Bien que les mécanismes réactionnels soient différents, il reste que le xylose est nettement plus abondant dans les hydrolysats que le glucose expliquant alors les teneurs plus élevées en furfural. De plus, un temps de résidence de 120 minutes engendre une plus grande formation de furfural et d'HMF dans les hydrolysats. Cela ouvre une voie supplémentaire de valorisation sur le marché des produits à valeur ajoutée.

4.4 Prétraitement : Cuisson NaOH

La cuisson au NaOH démontre des différences significatives entre les différentes concentrations. Toutefois, les quelques résultats rapportés en lien avec la cuisson NaOH

ne peuvent pas confirmer que ces différences sont exclusivement attribuables à cette cuisson. Initialement, les échantillons présentaient des différences en lien avec les extractibles, puis des différences significatives lors de l'autohydrolyse. Ainsi, les saules irrigués « Dose 2 » semblent démontrer un meilleur fractionnement sans toutefois l'affirmer hors de tout doute.

Les lignines précipitées des liqueurs noires sont comparables à la littérature en termes de structure. Les principaux groupements fonctionnels (O-H, cycle aromatique, C-C, C=C, C-O, C-H) soulignés dans le chapitre résultats correspondent, entre autres, aux groupements identifiés par l'équipe de Chaudhari *et al.* (2016). Puisqu'aucune quantification approfondie des oligomères, des monolignols et des produits de dégradation n'a été effectuée, il est impossible de comparer les lignines obtenues ici avec la littérature jusqu'à maintenant.

La quantité totale de lignines retirée s'élève à plus de 98 % avec des conditions de 5,2 % en NaOH avec l'utilisation du ASE350. D'après Zhong *et al.* (2020), une concentration de NaOH à 4 %, combinée à 50/50 (eau/sulfolane), permet d'atteindre un retrait de 98 % avec une pureté très intéressante. Ainsi, la combinaison de la pression et de la température permet d'avoir une aussi grande efficacité que la combinaison de plusieurs catalyseurs.

Les lignines retirées dans les saules « Contrôle » et la « Dose 2 » ne montrent donc pas de différences sur le plan structural. Son hydrolyse et sa dépolymérisation semblent donc être uniformes dans les deux types d'échantillons. Les fonctions de monolignols n'ont pas été affectées et, une fois dépolymérisée, leur dégradation n'est pas trop grande.

En se basant uniquement sur les rendements des lignines précipitées, le prétraitement employant 5,2 % de NaOH semble démontrer une meilleure efficacité pour dépolymériser les lignines. Cependant, des analyses plus poussées seront nécessaires afin de mieux comprendre quel genre de structure a résulté de la réaction et mieux cerner les meilleures conditions de prétraitement des lignines de saules.

4.5 Retour sur les hypothèses

Au départ, trois hypothèses ont été posées pour évaluer si l'irrigation des PSCR avec des eaux usées primaires entraînait :

- 1) Une augmentation de la concentration en hémicelluloses, cellulose et extractibles dans la biomasse.
- 2) Une diminution des concentrations en lignines relativement à l'augmentation des hémicelluloses et de la cellulose.
- 3) Une augmentation des concentrations en polyphénols dans les écorces de saule.

Selon les analyses de la composition, l'irrigation des saules dans un contexte de PSCR avec des eaux usées primaires élève, par conséquent, les teneurs en cellulose. Toutefois, les hémicelluloses restent stables au sein de la biomasse et les extractibles ont plutôt tendance à diminuer tel qu'expliquer dans la discussion. Ainsi, la première hypothèse est plutôt infirmée.

Toujours selon les analyses de composition, l'irrigation des saules avec des eaux usées primaires n'entraîne pas de différences significatives des teneurs en lignines dans la biomasse. Les eaux usées stimuleront uniformément les teneurs en hémicellulose et en lignines dans la biomasse sans présenter de différences notables par rapport aux « Contrôles ». La deuxième hypothèse est donc infirmée aussi.

Enfin, les concentrations en polyphénols dans les écorces n'ont pas été étudiées dans cette présente étude. Cette hypothèse sera plutôt vérifiée par le travail d'une collègue du Jardin botanique de Montréal qui porte plus précisément sur les extractibles du saule issu du même projet. Ils pourront non seulement être identifiés, quantifiés et potentiellement valorisés selon leurs propriétés spécifiques sur le marché des produits à valeur ajoutée.

CONCLUSION

Voici les principales conclusions de ce présent projet :

- 1) Les eaux usées primaires ont un effet positif sur la production en cellulose chez le saule.
- 2) Une autohydrolyse à l'eau (160 °C, 120 minutes, 1 500 psi, 100 % eau) hydrolyse favorablement les hémicelluloses et les lignines solubles à l'acide de la biomasse de saule.
- 3) Une cuisson au NaOH (170 °C, 60 minutes, 5,2 % NaOH [m/v], 1 500 psi) hydrolyse notamment les lignines de la biomasse de saule et permet de récupérer près de 98 % des lignines en vue d'une valorisation.
- 4) L'identification et la quantification de molécules à haute valeur ajoutée (furfural, HMF, xylose et glucose) issues d'une source renouvelable présentent des teneurs intéressantes et prometteuses pour le secteur du bioraffinage.

Afin de compléter cette étude et de préciser les spectres IR, la caractérisation des lignines hydrolysée et solubilisée permettrait de mieux cerner les possibles applications de cette ressource polyvalente et renouvelable. Aussi, la saccharification de la biomasse post-prétraitement en laboratoire donnerait des informations supplémentaires sur les avenues à exploiter avec la cellulose et ses sous-unités de glucoses.

Dans le cadre de cette maîtrise, ces travaux ont démontré que l'irrigation de plantation de saules à croissance rapide avec des eaux usées primaires est prometteur pour le secteur du bioraffinage. À grande échelle, cette approche novatrice utilisant une phytotechnologie permettrait non seulement de solutionner une problématique environnementale, mais aussi de réapprovisionner un secteur économique en déclin, c'est-à-dire les pâtes et papiers à l'aide du bioraffinage.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdelsalam, I. M., Elshobary, M., Eladawy, M. M. et Nagah, M. (2019). *Utilization of Multi-Tasking Non-Edible Plants for Phytoremediation and Bioenergy Source-A Review*. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 88(2). doi : 10.32604/phyton.2019.06831
- ADIT. (2006). *Traitemet biologique des sols pollués : recherche et innovation*, 92. Récupéré de <https://docplayer.fr/9945212-Traitement-biologique-des-sols-pollues-recherche-et-innovation.html>
- Aguilar-Reynosa, A., Romaní, A., Ma. Rodríguez-Jasso, R., Aguilar, C. N., Garrote, G. et Ruiz, H. A. (2017). Microwave heating processing as alternative of pretreatment in second-generation biorefinery: An overview. *Energy Conversion and Management*, 136, 50-65. doi: 10.1016/j.enconman.2017.01.004
- Ahmadi Moghaddam, E., Ericsson, N., Hansson, P.-A. et Nordberg, Å. (2019). Exploring the potential for biomethane production by willow pyrolysis using life cycle assessment methodology. *Energy, Sustainability and Society*, 9(1). doi: 10.1186/s13705-019-0189-0
- Alexandropoulou, M., Antonopoulou, G., Fragkou, E., Ntaikou, I. et Lyberatos, G. (2017). Fungal pretreatment of willow sawdust and its combination with alkaline treatment for enhancing biogas production. *Journal of Environmental Management*, 203, 704-713. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.04.006
- Ansari, A. A., Gill, R., Newman, L., Gill, S. S. et Lanza, G. R. (2016). *Phytoremediation : Management of environmental contaminants, volume 3*. *Phytoremediation : Management of Environmental Contaminants, Volume 3*. (s. l.: n. é.). doi: 10.1007/978-3-319-40148-5
- Aronsson, P. G. et Bergström, L. F. (2001). Nitrate leaching from lysimeter-grown short-rotation willow coppice in relation to N-application, irrigation and soil type. *Biomass and Bioenergy*, 21(3), 155-164. doi: 10.1016/S0961-9534(01)00022-8
- Aronsson, P. G., Bergström, L. F. et Elowson, S. N. E. (2000). Long-term influence of intensively cultured short-rotation willow coppice on nitrogen concentrations in groundwater. *Journal of Environmental Management*, 58(2), 135-145. doi: 10.1006/jema.1999.0319

- Aronsson, P., Rosenqvist, H. et Dimitriou, I. (2014). Impact of Nitrogen Fertilization to Short-Rotation Willow Coppice Plantations Grown in Sweden on Yield and Economy. *Bioenergy Research*, 7(3), 993-1001. doi: 10.1007/s12155-014-9435-7
- Azuma, J., Tanaka, F. et Koshijima, T. (1984). Enhancement of enzymatic susceptibility of lignocellulosic wastes by microwave irradiation. *Journal of fermentation technology*, 62(4), 377-384.
- Azzarello, E., Pandolfi, C., Pollastri, S., Masi, E., Mugnai, S. et Mancuso, S. (2011). The use of trees in phytoremediation. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 6(037). doi: 10.1079/PAVSNNR20116037
- Baruah, J., Nath, B. K., Sharma, R., Kumar, S., Deka, R. C., Baruah, D. C. et Kalita, E. (2018). Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products. *Frontiers in Energy Research*, 6(DEC). doi: 10.3389/fenrg.2018.00141
- Berthod, N., Brereton, N. J. B., Pitre, F. E. et Labrecque, M. (2015). Five willow varieties cultivated across diverse field environments reveal stem density variation associated with high tension wood abundance. *Frontiers in Plant Science*, 6. doi : 10.3389/fpls.2015.00948
- Bhaskar Reddy, A. V., Moniruzzaman, M. et Goto, M. (2019). Ionic liquids for pretreatment of biomass. Dans *Comprehensive Biotechnology* (p. 190-198). doi: 10.1016/B978-0-444-64046-8.00121-X
- Borand, M. N. et Karaosmanoğlu, F. (2018). Effects of organosolv pretreatment conditions for lignocellulosic biomass in biorefinery applications: A review. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 10(3). doi: 10.1063/1.5025876
- Brosse, N., Hussin, M. H. et Rahim, A. A. (2019). *Organosolv processes. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 166, 153-176. doi: 10.1007/10_2016_61
- Butterfield, B. G., Anatomists, I. A. of W. et Organizations, I. U. of F. R. (1998). *Microfibril angle in wood: the proceedings of the IAWA/IUFRO International Workshop on the Significance of Microfibril Angle to Wood Quality; Westport, New Zealand, November 1997*. [Leiden, The Netherlands] : International Association of Wood Anatomists. Récupéré de <http://books.google.co.jp/books?id=D-gsAQAAQAAJ>
- Carton, B. (s. d.). Pyrolyse. Dans *Encyclopaedia Universalis*. Récupéré de <http://www.universalis.fr/encyclopedie/pyrolyse/>

- Castillo-Saldaña, C. et Velásquez-Lozano, M. (2019). Ethanol production using pretreated biomass of *Panicum maximum*: Effect of high solids loading on enzymatic hydrolysis and fermentation of hydrolysates . *Ingeniare*, 27(2), 246-260. doi: 10.4067/S0718-33052019000200246
- Chang, V. S. et Holtzapple, M. T. (2000). Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology – Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, 84-86, 5-37. Récupéré de <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0034119282&partnerID=40&md5=8744084ef16c0d47ac40fa3d40066c19>
- Chaudhari, A. (2016). Nitrobenzene Oxidation for Isolation of Value Added Products from Industrial Waste Lignin. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 6, 501-513.
- Chen, Y., Bai, X., Yang, T., Zou, L., Liu, Z., Wang, Z. et He, C. (2019). A preliminary study on a novelwater treatment pond design using dredged sediment, shrubwillow and recycling hand pumps for the restoration of water pollution. *Water (Switzerland)*, 11(5). doi: 10.3390/w11050972
- Cherubini, F. (2010). The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management*, 51(7), 1412-1421. doi: 10.1016/j.enconman.2010.01.015
- Comba, M. B., Tsai, Y.-H., Sarotti, A. M., Mangione, M. I., Suárez, A. G. et Spanevello, R. A. (2018). Levoglucosenone and Its New Applications: Valorization of Cellulose Residues. *European Journal of Organic Chemistry*, 2018(5), 590-604. doi: 10.1002/ejoc.201701227
- Curti, R. (2018). *Analyse, modélisation et simulation de la coupe orthogonale du bois vert en vue de son application au fraisage par canter*.
- Dang, D. (2016). *Mesures de champs pour la caractérisation d'hétérogénéités dans le matériau bois*, 194.
- Dimitriou, I. et Aronsson, P. (2004). Nitrogen leaching from short-rotation willow coppice after intensive irrigation with wastewater. *Biomass and Bioenergy*, 26(5), 433-441. doi: 10.1016/j.biombioe.2003.08.009
- Dimitriou, I. et Aronsson, P. (2005). Willows for energy and phytoremediation in Sweden. *Unasylva*, 56(221), 47-50.

- Dimitriou, I. et Aronsson, P. (2010). Landfill leachate treatment with willows and poplars - Efficiency and plant response. *Waste Management*, 30(11), 2137-2145. doi: 10.1016/j.wasman.2010.06.013
- Dimitriou, I. et Rosenqvist, H. (2011). Sewage sludge and wastewater fertilisation of Short Rotation Coppice (SRC) for increased bioenergy production-Biological and economic potential. *Biomass and Bioenergy*, 35(2), 835-842. doi: 10.1016/j.biombioe.2010.11.010
- Diop, A., Adjallé, K., Boëns, B., Montplaisir, D. et Barnabé, S. (2017). Synthesis and characterization of lignin-melamine-formaldehyde resin. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 30(9), 1255-1266. doi: 10.1177/0892705716632856
- Dou, J., Galvis, L., Holopainen-Mantila, U., Reza, M., Tamminen, T. et Vuorinen, T. (2016). Morphology and Overall Chemical Characterization of Willow (*Salix* sp.) Inner Bark and Wood: Toward Controlled Deconstruction of Willow Biomass. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(7), 3871-3876. doi: 10.1021/acssuschemeng.6b00641
- Duquette, S., Parenteau, M., Dubé, M. et Barnabé, S. (2013). Corn residues products. Dans *2013 PEERS Conference, Co-located with the 2013 International Bioenergy and Bioproducts Conference* (vol. 1, p. 616-649). Récupéré de <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84943554702&partnerID=40&md5=532e920874d184bae924c83b230a786a>
- Eklund, R., Galbe, M. et Zacchi, G. (1995). The influence of SO₂ and H₂SO₄ impregnation of willow prior to steam pretreatment. *Bioresource Technology*, 52(3), 225-229. doi: 10.1016/0960-8524(95)00042-D
- Elaieb, M. T. (2014). *Amélioration de l'imperméabilité aux solutions aqueuses des duramen des résineux : le cas du Douglas (*Pseudotsuga Menziesii* Franco)*.
- Environnement et ressources naturelles. (2014). Pollution issues des eaux usées. Dans *Gouvernement du Canada*. Récupéré de <https://www.canada.ca/fr/environnement-changement-climatique/services/eaux-usees/pollution.html>
- Ericsson, N., Sundberg, C., Nordberg, Å., Ahlgren, S. et Hansson, P.-A. (2017). Time-dependent climate impact and energy efficiency of combined heat and power production from short-rotation coppice willow using pyrolysis or direct combustion. *GCB Bioenergy*, 9(5), 876-890. doi: 10.1111/gcbb.12415
- Fabio, E. S. et Smart, L. B. (2018). Effects of nitrogen fertilization in shrub willow short rotation coppice production - a quantitative review. *GCB Bioenergy*, 10(8), 548-564. doi: 10.1111/gcbb.12507

- Farhat, W., Venditti, R., Quick, A., Taha, M., Mignard, N., Becquart, F. et Ayoub, A. (2017). Hemicellulose extraction and characterization for applications in paper coatings and adhesives. *Industrial Crops and Products*, 107, 370-377. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.05.055
- Flórez-Pardo, L. M., González-Córdoba, A. et López-Galan, J. E. (2018). Evaluation of different methods for efficient extraction of hemicelluloses leaves and tops of sugarcane. *DYNA*, 85(204), 18-27. doi: 10.15446/dyna.v85n204.66626
- Fondation Rivières. (2018). *Liste des municipalités sans ouvrages municipaux d'assainissement des eaux en 2018*.
- Frédette, C., Comeau, Y. et Brisson, J. (2019). Ecophysiological Responses of a Willow Cultivar (*Salix miyabeana* « SX67 ») Irrigated with Treated Wood Leachate. *Water, Air, and Soil Pollution*, 230(8). doi: 10.1007/s11270-019-4244-4
- Ghislain, T., Duret, X., Diouf, P. N. et Lavoie, J.-M. (2020). Lignocellulosic Biomass BT –Handbook on Characterization of Biomass, Biowaste and Related By-products. A. Nzihou (dir.), (p. 499-535). Cham : Springer International Publishing. doi : 10.1007/978-3-030-35020-8_3
- Gouvernement du Québec. (2020). *Règlement sur la qualité de l'eau potable*.
- Grigoras, I. F., Stroe, R. E., Sintamarean, I. M. et Rosendahl, L. A. (2017). Effect of biomass pretreatment on the product distribution and composition resulting from the hydrothermal liquefaction of short rotation coppice willow. *Bioresource Technology*, 231, 116-123. doi: 10.1016/j.biortech.2017.01.056
- Guidi Nissim, W., Jerbi, A., Lafleur, B., Fluet, R. et Labrecque, M. (2015). Willows for the treatment of municipal wastewater: Performance under different irrigation rates. *Ecological Engineering*, 81, 395-404. doi: 10.1016/j.ecoleng.2015.04.067
- Haldar, D. et Purkait, M. K. (2020). Lignocellulosic conversion into value-added products: A review. *Process Biochemistry*, 89, 110-133. doi: 10.1016/j.procbio.2019.10.001
- Hamlin, C. R. et Cverna, F. A. (1982). A reassessment of o-toluidine for determination of xylose in serum and urine. *Clinical Chemistry*, 28(4 Pt 1), 728-729. Récupéré de <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0020123451&partnerID=40&md5=1d68a033697b5409eb04841e4fb4e740>

- Han, S.-Y., Park, C.-W., Endo, T., Febrianto, F., Kim, N.-H. et Lee, S.-H. (2020). Extrusion process to enhance the pretreatment effect of ionic liquid for improving enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Wood Science and Technology*, 54(3), 599-613. doi: 10.1007/s00226-020-01170-9
- Hassan, S. S., Williams, G. A. et Jaiswal, A. K. (2018). Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 262, 310-318. doi: 10.1016/j.biortech.2018.04.099
- Hasselgren, K. (1998). Use of municipal waste products in energy forestry: Highlights from 15 years of experience. *Biomass and Bioenergy*, 15(1), 71-74. doi: 10.1016/S0961-9534(97)10052-6
- Holm, B. et Heinsoo, K. (2013). Municipal wastewater application to Short Rotation Coppice of willows - Treatment efficiency and clone response in Estonian case study. *Biomass and Bioenergy*, 57, 126-135. doi: 10.1016/j.biombioe.2013.08.001
- Holmbom, B. (2002). Xylitol : A healthy sweetener from birch wood. *Actualité Chimique*, (11-12), 52-53. Récupéré de <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0036871398&partnerID=40&md5=9a933b9c26bbe32a4de95f0cbe6ce959>
- Hu, B., Lu, Q., Wu, Y.-T., Xie, W.-L., Cui, M.-S., Liu, J., ... Yang, Y.-P. (2020). Insight into the formation mechanism of levoglucosenone in phosphoric acid-catalyzed fast pyrolysis of cellulose. *Journal of Energy Chemistry*, 43, 78-89. doi: 10.1016/j.jec.2019.08.001
- Huijgen, W. J. J., Smit, A. T., Reith, J. H. et Uil, H. D. (2011). Catalytic organosolv fractionation of willow wood and wheat straw as pretreatment for enzymatic cellulose hydrolysis. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 86(11), 1428-1438. doi: 10.1002/jctb.2654
- Hyväläoma, J., Hannula, M., Arstila, K., Wang, H., Kulju, S. et Rasa, K. (2018). Effects of pyrolysis temperature on the hydrologically relevant porosity of willow biochar. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 134, 446-453. doi: 10.1016/j.jaap.2018.07.011
- Hyvärinen, A. et Nikkilä, E. A. (1962). Specific determination of blood glucose with o-toluidine. *Clinica Chimica Acta*, 7(1), 140-143. doi: 10.1016/0009-8981(62)90133-X
- Jerbi, A. (2014). *Effet de l'irrigation par l'eau usée sur la biomasse aérienne et souterraine d'une culture intensive de saules en courtes rotations*. Récupéré de <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/11221>

- Jerbi, A., Brereton, N. J. B., Sas, E., Amiot, S., Lachapelle, T. X., Comeau, Y., ... Labrecque, M. (2020). High biomass yield increases in a primary effluent wastewater phytofiltration are associated to altered leaf morphology and stomatal size in *Salix miyabeana*. *Science of The Total Environment*, 139728. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139728
- Jerbi, A., Nissim, W. G. G., Fluet, R. et Labrecque, M. (2015). Willow Root Development and Morphology Changes Under Different Irrigation and Fertilization Regimes in a Vegetation Filter. *Bioenergy Research*, 8(2), 775-787. doi: 10.1007/s12155-014-9550-5
- Johnson, M. P. (2016). Photosynthesis. *Essays in Biochemistry*, 60(3), 255-273. doi: 10.1042/EBC20160016
- Khurelbaatar, G., Sullivan, C. M., van Afferden, M., Rahman, K. Z., Fühner, C., Gerel, O., ... Müller, R. A. (2017). Application of primary treated wastewater to short rotation coppice of willow and poplar in Mongolia: Influence of plants on treatment performance. *Ecological Engineering*, 98, 82-90. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.10.010
- Kim, J. S., Lee, Y. Y. et Kim, T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 199, 42-48. doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.085
- Koenig, S. et Trémolières, M. (2018). Transfer of Nitrogen and Phosphorus Nutrients in Vegetated Buffer Zones Receiving Treatment Plant Effluent. *Environmental Processes*, 5(3), 555-575. doi : 10.1007/s40710-018-0309-4
- Korotkova, E., Pranovich, A., Wärnå, J., Salmi, T., Murzin, D. Y. et Willför, S. (2015). Lignin isolation from spruce wood with low concentration aqueous alkali at high temperature and pressure: Influence of hot-water pre-extraction. *Green Chemistry*, 17(11), 5058-5068. doi: 10.1039/c5gc01341k
- Krishania, M., Kumar, V. et Sangwan, R. S. (2018). Integrated approach for extraction of xylose, cellulose, lignin and silica from rice straw. *Bioresource Technology Reports*, 1, 89-93. doi: 10.1016/j.biteb.2018.01.001
- Krzyżaniak, M., Stolarski, M. J., Waliszewska, B., Szczukowski, S., Tworkowski, J., Załuski, D. et Śnieg, M. (2014). Willow biomass as feedstock for an integrated multi-product biorefinery. *Industrial Crops and Products*, 58, 230-237. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.04.033
- Kucerova, V., Vladimir, H., Vybohova, E. et Cabalova, I. (2020). Chemical Changes within Solids during Liquid Hot Water Pretreatment of Wood, 15(1), 38-48.

- Kučerová, V. et Výbohová, E. (2018). Release of saccharides during hot-water pretreatment of willow wood (*Salix alba L.*). *Cellulose Chemistry and Technology*, 52(5-6), 381-386. Récupéré de <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85050827394&partnerID=40&md5=2d5cc1da4945e602eff623996435be60>
- Kucharska, K., Cieśliński, H., Rybarczyk, P., Słupek, E., Łukajtis, R., Wychodnik, K. et Kamiński, M. (2019). Fermentative conversion of two-step pre-treated lignocellulosic biomass to hydrogen. *Catalysts*, 9(10). doi: 10.3390/catal9100858
- Kumar, A. K. et Sharma, S. (2017). Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. *Bioresources and Bioprocessing*, 4(1). doi: 10.1186/s40643-017-0137-9
- Kumari, D. et Singh, R. (2018). Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 877-891. doi: 10.1016/j.rser.2018.03.111
- Lachapelle-T., X., Labrecque, M. et Comeau, Y. (2019). Treatment and valorization of a primary municipal wastewater by a short rotation willow coppice vegetation filter. *Ecological Engineering*, 130, 32-44. doi : 10.1016/j.ecoleng.2019.02.003
- Lachapelle-Trouillard, X. (2017). *Critères de dimensionnement et d'opération d'un procédé de traitement des eaux usées municipales par plantation de saules à croissance rapide en climat québécois*. Université de Montréal.
- Leghari, S. J., Wahcho, N. A., Laghari, G. M., HafeezLaghari, A., Mustafa Bhabhan, G., HussainTalpur, K. et Lashari, A. A. (2016). Role of nitrogen for plant growth and development : a review. *Advances in Environmental Biology*, 10(9), 209-219.
- Lempiäinen, H., Lappalainen, K., Haverinen, J., Tuuttila, T., Hu, T., Jaakkola, M. et Lassi, U. (2020). The Effect of Mechanocatalytic Pretreatment on the Structure and Depolymerization of Willow. *Catalysts*, 10(2), 255. doi: 10.3390/catal10020255
- Li, C., Wang, W., Mu, Y., Zhang, J., Zhang, S., Li, J. et Zhang, W. (2018). Structural Properties and Copolycondensation Mechanism of Valonea Tannin-Modified Phenol-formaldehyde Resin. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(3), 1297-1309. doi: 10.1007/s10924-017-1008-3
- Li, J., Xu, Y., Zhang, M. et Wang, D. (2017a). Determination of Furfural and 5-Hydroxymethylfurfural in Biomass Hydrolysate by High-Performance Liquid Chromatography. *Energy and Fuels*. doi: 10.1021/acs.energyfuels.7b02827

- Li, T., Lyu, G., Liu, Y., Lou, R., Lucia, L. A., Yang, G., ... Saeed, H. A. M. (2017 b). Deep eutectic solvents (DESs) for the isolation of willow lignin (*salix matsudana* cv. zhuliu). *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11). doi: 10.3390/ijms18112266
- Liu, S. (2010). Woody biomass: Niche position as a source of sustainable renewable chemicals and energy and kinetics of hot-water extraction/hydrolysis. *Biotechnology Advances*, 28(5), 563-582. doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.05.006
- Lloyd, T. A. et Wyman, C. E. (2005). Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids. *Bioresource Technology*, 96(18 SPEC. ISS.), 1967-1977. doi: 10.1016/j.biortech.2005.01.011
- Lyu, G., Li, T., Ji, X., Yang, G., Liu, Y., Lucia, L. et Chen, J. (2018). Characterization of Lignin Extracted from Willow by Deep Eutectic Solvent Treatments. *Polymers*, 10(8), 869. doi: 10.3390/polym10080869
- Malherbe, S. et Cloete, T. E. (2002). Lignocellulose biodegradation: Fundamentals and applications. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 1(2), 105-114. doi: 10.1023/A:1020858910646
- Marineau, J. et Lafontaine, F. (2018). *BIOCHIMIE EXPÉRIMENTALE I BCM-1004*.
- Maurya, D. P., Singla, A. et Negi, S. (2015). An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech*, 5(5), 597-609. doi : 10.1007/s13205-015-0279-4
- Millati, R., Wikandari, R., Ariyanto, T., Putri, R. U. et Taherzadeh, M. J. (2020). Pretreatment technologies for anaerobic digestion of lignocelluloses and toxic feedstocks. *Bioresource Technology*, 304. doi: 10.1016/j.biortech.2020.122998
- Ministère de l'Environnement et Lutte contre les changements climatiques. (2013). Règlement sur les ouvrages municipaux d'assainissement des eaux usées. Dans *Gouvernement du Québec*. Récupéré de <http://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/ouvrages-municipaux/reglement2013.htm>
- Ministère des Affaires municipales et Habitation. (2016). Entente Canada-Québec concernant le Fonds pour l'eau potable et le traitement des eaux usées. Dans *Gouvernement du Québec*. Récupéré de <https://www.mamh.gouv.qc.ca/actualites/actualite/article/entente-canada-quebec-concernant-le-fonds-pour-leau-potable-et-le-traitement-des-eaux-usees/>

Ministère des Ressources naturelles et de la Faune. (2009). *Guide de développement – Le bioraffinage forestier : Possibilité pour les entreprises québécoises de pâtes et papiers.* Récupéré de www.mrnf.gouv.qc.ca/publications/forets/entreprises/bioraffinage-forestier.pdf

Moiceanu, G., Paraschiv, G., Voicu, G., Dinca, M., Negoita, O., Chitoiu, M. et Tudor, P. (2019). Energy consumption at size reduction of lignocellulose biomass for bioenergy. *Sustainability (Switzerland)*, 11(9). doi: 10.3390/su11092477

Moreau, A., Montplaisir, D., Sparling, R. et Barnabé, S. (2015). Hydrogen, ethanol and cellulase production from pulp and paper primary sludge by fermentation with *Clostridium thermocellum*. *Biomass and Bioenergy*, 72, 256-262. doi: 10.1016/j.biombioe.2014.10.028

Mussatto, S. I. (2016). *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery. Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery.* Elsevier. Récupéré de <https://app.knovel.com/热链接/toc/id:kpBFTLFBB2/biomass-fractionation/biomass-fractionation>

Mussatto, S. I. et Dragone, G. M. (2016). Biomass Pretreatment, Biorefineries, and Potential Products for a Bioeconomy Development. Dans *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery* (p. 1-22). doi: 10.1016/B978-0-12-802323-5.00001-3

Oleszek, M., Kowalska, I. et Oleszek, W. (2019). Phytochemicals in bioenergy crops. *Phytochemistry Reviews*, 18(3), 893-927. doi: 10.1007/s11101-019-09639-7

Ooshima, H., Aso, K., Harano, Y. et Yamamoto, T. (1984). Microwave treatment of cellulosic materials for their enzymatic hydrolysis. *Biotechnology Letters*, 6(5), 289-294. doi: 10.1007/BF00129056

Perrone, O. M., Bordignon, S. E., Boscolo, M., Gomes, E. et da Silva, R. (2018). Ozonolysis applied to lignocellulosic biomass. Dans *Bioethanol and Beyond: Advances in Production Process and Future Directions* (p. 145-166). Récupéré de <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85048397142&partnerID=40&md5=d05e286df74f229eeae294a933e6e7ea>

Pilon-smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), 15-39. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144214

- Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review Of Plant Biology*, 56, 15-39. Récupéré de <http://proxy.uqtr.ca/login.cgi?action=login&u=uqtr&db=ebsco&ezurl=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mnh&AN=15862088&site=ehost-live>
- Quinlan, R. J., Sweeney, M. D., Lo Leggio, L., Otten, H., Poulsen, J. C. N., Johansen, K. S., ... Walton, P. H. (2011). Insights into the oxidative degradation of cellulose by a copper metalloenzyme that exploits biomass components. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(37), 15079-15084. doi: 10.1073/pnas.1105776108
- Rajendran, K., Drieklak, E., Sudarshan Varma, V., Muthusamy, S. et Kumar, G. (2018). Updates on the pretreatment of lignocellulosic feedstocks for bioenergy production—a review. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 8(2), 471-483. doi: 10.1007/s13399-017-0269-3
- Rasool, T., Srivastava, V. C. et Khan, M. N. S. (2018). Bioenergy Potential of Salix alba Assessed Through Kinetics and Thermodynamic Analyses. *Process Integration and Optimization for Sustainability*, 2(3), 259-268. doi: 10.1007/s41660-018-0040-7
- Ravindran, R. et Jaiswal, A. K. (2016). A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 199, 92-102. doi: 10.1016/j.biortech.2015.07.106
- Ray, M. J., Brereton, N. J. B., Shield, I., Karp, A. et Murphy, R. J. (2012). Variation in Cell Wall Composition and Accessibility in Relation to Biofuel Potential of Short Rotation Coppice Willows. *BioEnergy Research*, 5(3), 685-698. doi: 10.1007/s12155-011-9177-8
- Robillard, J.-P. (2018). 93 Municipalités Québécoises Toujours Sans Un Réseau D'Égout. *ICI Radio-Canada* (Tadoussac). Récupéré de <https://ici.radio-canada.ca/nouvelle/1126288/reseau-egout-eaux-usees-municipalites-ville-village-quebec-egout-environnement>
- Rock, S., Pivetz, B., Madalinski, K., Adams, N. et Wilson, T. (2000). Introduction to Phytoremediation. *U.S. Environmental Protection Agency, EPA/600/R-(NTIS PB2000-106690)*. doi: 10.4018/978-1-5225-9016-3.ch001
- Rosenqvist, H. et Dawson, M. (2005). Economics of using wastewater irrigation of willow in Northern Ireland. *Biomass and Bioenergy*, 29(2), 83-92. doi: 10.1016/j.biombioe.2005.04.001
- Schachtman, D. P., Reid, R. J. et Ayling, S. M. (1998). Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiology*, 116(2), 447-453. doi: 10.1104/pp.116.2.447

- Sharma, N., Barion, G., Shrestha, I., Ebinezer, L. B., Trentin, A. R., Vamerali, T., ... Ghisi, R. (2020). Accumulation and effects of perfluoroalkyl substances in three hydroponically grown *Salix* L. species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.110150
- Shi, X., Chen, Y.-T., Wang, S.-F., Wang, X.-X., Li, X., Pan, H.-W. et Sun, H.-J. (2015). Growth and nutrition removal of *Salix matsudana* clone seedlings in eutrophic water. *Forest Research*, 28(3), 317-324. Récupéré de <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84936939476&partnerID=40&md5=f4675bad0b4fec8b5a4c306753a3b36e>
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R. O., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D. et Energy, D. of. (2004). Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. *Biomass Analysis Technology Team Laboratory Analytical Procedure* (April 2008), 1-14.
- Sluiter, A., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., Sluiter, A., ... Templeton, D. (2008). *Determination of extractives in biomass*. Golden, Colorado. doi: 10.1016/j.rmr.2016.02.006
- Smith, E. L., Abbott, A. P. et Ryder, K. S. (2014). Deep Eutectic Solvents (DESs) and Their Applications. *Chemical Reviews*, 114(21), 11060-11082. doi: 10.1021/cr300162p
- Société québécoise de phytotechnologie. (2016). *La phytoremédiation*, 28. Récupéré de http://www.phytotechno.com/fiches-techniques/fiches/20160531_SQP_Fiche_phytoremediation.pdf
- Soltanian, S., Aghbashlo, M., Almasi, F., Hosseinzadeh-Bandbafha, H., Nizami, A.-S., Ok, Y. S., ... Tabatabaei, M. (2020). A critical review of the effects of pretreatment methods on the exergetic aspects of lignocellulosic biofuels. *Energy Conversion and Management*, 212. doi: 10.1016/j.enconman.2020.112792
- Song, Y., Chandra, R. P., Zhang, X., Tan, T. et Saddler, J. N. (2019). Comparing a deep eutectic solvent (DES) to a hydrotrope for their ability to enhance the fractionation and enzymatic hydrolysis of willow and corn stover. *Sustainable Energy and Fuels*, 3(5), 1329-1337. doi: 10.1039/c8se00617b
- St-Michel, É. (2013). Les produits innovants et surprenants du bois. Dans *Progrès forestier*. Récupéré de <https:// afsq.org/wp-content/uploads/2017/07/Les-produits-innovants-PF-automne-2013-low.pdf>

- St-Pierre, A. (2018). *Caractérisation des extractibles provenant des résidus de sciage du peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*) et évaluation de leur activité antimicrobienne*. Université du Québec à Trois-Rivières.
- Steinbach, D., Kruse, A. et Sauer, J. (2017). Pretreatment technologies of lignocellulosic biomass in water in view of furfural and 5-hydroxymethylfurfural production-A review. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 7(2), 247-274. doi: 10.1007/s13399-017-0243-0
- Stevanovic, T. (2016). Chemical Composition and Properties of Wood. Dans *Lignocellulosic Fibers and Wood Handbook: Renewable Materials for Today's Environment* (p. 49-106). doi: 10.1002/9781118773727.ch3
- Stoklosa, R. et Hodge, D. (2009). *Alkaline Hemicellulose Extraction and Solubility-Based Separation From Hardwoods*. (s. l. : n. é.).
- Sumiahadi, A. et Acar, R. (2018). A review of phytoremediation technology: Heavy metals uptake by plants. Dans *IOP Conference Series : Earth and Environmental Science* (vol. 142). doi: 10.1088/1755-1315/142/1/012023
- Świątek, K., Gaag, S., Klier, A., Kruse, A., Sauer, J. et Steinbach, D. (2020). Acid hydrolysis of lignocellulosic biomass: Sugars and furfurals formation. *Catalysts*, 10(4). doi: 10.3390/catal10040437
- Tan, Y. T., Chua, A. S. M. et Ngoh, G. C. (2020). Deep eutectic solvent for lignocellulosic biomass fractionation and the subsequent conversion to bio-based products – A review. *Bioresource Technology*, 297. doi: 10.1016/j.biortech.2019.122522
- Tarves, P. C., Serapiglia, M. J., Mullen, C. A., Boateng, A. A. et Volk, T. A. (2017). Effects of hot water extraction pretreatment on pyrolysis of shrub willow. *Biomass and Bioenergy*, 107, 299-304. doi: 10.1016/j.biombioe.2017.10.024
- Therasme, O., Volk, T. A., Cabrera, A. M., Eisenbies, M. H. et Amidon, T. E. (2018). Hot water extraction improves the characteristics of willow and sugar maple biomass with different amount of bark. *Frontiers in Energy Research*, 6(SEP). doi : 10.3389/fenrg.2018.00093
- Tomás-Pejó, E., Alvira, P., Ballesteros, M. et Negro, M. J. (2011). Pretreatment technologies for lignocellulose-to-bioethanol conversion. Dans *Biofuels* (p. 149-176). doi : 10.1016/B978-0-12-385099-7.00007-3

- Travaini, R., Martín-Juárez, J., Lorenzo-Hernando, A. et Bolado-Rodríguez, S. (2016). Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited. *Bioresource Technology*, 199, 2-12. doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.143
- Tyśkiewicz, K., Konkol, M., Kowalski, R., Rój, E., Warmiński, K., Krzyżaniak, M., ... Stolarski, M. J. (2019). Characterization of bioactive compounds in the biomass of black locust, poplar and willow. *Trees - Structure and Function*, 33(5), 1235-1263. doi: 10.1007/s00468-019-01837-2
- Urbaniak, M., Wyrwicka, A., Tołoczko, W., Serwecińska, L. et Zieliński, M. (2017). The effect of sewage sludge application on soil properties and willow (*Salix* sp.) cultivation. *Science of the Total Environment*, 586, 66-75. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.02.012
- Vasudevan, P., Sen, P. K., Srivastava, R. K., Tandon, M., Hegde, S., Vijaya Kumar, T. et Davies, P. (2019). Ecosystem services by wetlands for polluted water treatment. Dans *AIP Conference Proceedings* (vol. 2121). doi: 10.1063/1.5115973
- Wang, Y. et Zhang, B. (2013). *Biomass Processing, Conversion, and Biorefinery*. Hauppauge, New York : Nova Science Publishers, Inc. Récupéré de <http://proxy.uqtr.ca/login.cgi?action=login&u=uqtr&db=ebSCO&ezurl=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=e000xna&AN=635072&site=ehost-live>
- Wendt, L. M. et Zhao, H. (2020). Review on Bioenergy Storage Systems for Preserving and Improving Feedstock Value. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. doi: 10.3389/fbioe.2020.00370
- Wyrwicka, A. et Urbaniak, M. (2018). The biochemical response of willow plants (*Salix viminalis* L.) to the use of sewage sludge from various sizes of wastewater treatment plant. *Science of the Total Environment*, 615, 882-894. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.005
- Xu, H., Peng, J., Kong, Y., Liu, Y., Su, Z., Li, B., ... Tian, W. (2020). Key process parameters for deep eutectic solvents pretreatment of lignocellulosic biomass materials: A review. *Bioresource Technology*, 310. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123416
- Xu, Z. et Huang, F. (2014). Pretreatment methods for bioethanol production. *Applied biochemistry and biotechnology*, 174(1), 43-62. doi: 10.1007/s12010-014-1015-y
- Yasuda, S., Fukushima, K. et Kakehi, A. (2001). Formation and chemical structures of acid-soluble lignin I: Sulfuric acid treatment time and acid-soluble lignin content of hardwood. *Journal of Wood Science*, 47(1), 69-72. doi : 10.1007/BF00776648

- Zhao, X., Cheng, K. et Liu, D. (2009). Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Applied microbiology and biotechnology*, 82, 815-827. doi: 10.1007/s00253-009-1883-1
- Zheng, Y., Lin, H.-M. et Tsao, G. T. (1998). Pretreatment for Cellulose Hydrolysis by Carbon Dioxide Explosion. *Biotechnology Progress*, 14(6), 890-896. doi: 10.1021/bp980087g
- Zhong, L., Xu, M., Wang, C., Shao, L., Mao, J., Jiang, W., ... Xu, F. (2020). Pretreatment of willow using the alkaline-catalyzed sulfolane/water solution for high-purity and antioxidative lignin production. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 287-294. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.074
- Zhu, D., Adebisi, W. A., Ahmad, F., Sethupathy, S., Danso, B. et Sun, J. (2020). Recent Development of Extremophilic Bacteria and Their Application in Biorefinery. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. doi: 10.3389/fbioe.2020.00483
- Ziegler-Devin, I., MENANA, Z., Chrusciel, L., Chalot, M., Bert, V. et Brosse, N. (2019). Steam explosion pretreatment of willow grown on phytomanaged soils for bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, 140. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111722

ANNEXE

COMPLÉMENTS D'INFORMATION

Figure 3.1	(1 ^{re} année) Contrôle : $10,7 \pm 3,7$ t de biomasse/ha; Eau potable : $11,5 \pm 3,6$ t de biomasse/ha; Eaux usées « Dose 1 » : $22,4 \pm 7,8$ t de biomasse/ha et Eaux usées « Dose 2 » : $26,1 \pm 7,1$ t de biomasse/ha. (2 ^e année) Contrôle : $18,3 \pm 8,7$ t de biomasse/ha; Eau potable : $13,1 \pm 5,7$ t de biomasse/ha; Eaux usées Dose 1 : $28,8 \pm 12,7$ t de biomasse/ha et Eaux usées Dose 2 : $40,4 \pm 15,5$ t de biomasse/ha.
Figure 3.2	Contrôle : $10,5 \pm 0,5$ % (m/m), Eau potable : $10,7 \pm 1,1$ % (m/m), Dose 1 : $6,8 \pm 0,7$ % (m/m) et Dose 2 : $7,3 \pm 0,8$ % (m/m).
Figure 3.3	(Xylane) Contrôle : $11,9 \pm 1,6$ % (m/m), Eau potable : $12,6 \pm 0,9$ % (m/m), Dose 1 : $13,3 \pm 1,6$ % (m/m) et Dose 2 : $12,9 \pm 1,0$ % (m/m). (Galactane) Contrôle : $1,3 \pm 0,2$ % (m/m), Eau potable : $1,4 \pm 0,1$ % (m/m), Dose 1 : $1,3 \pm 0,2$ % (m/m) et Dose 2 : $1,2 \pm 0,1$ % (m/m). (Arabinane) Contrôle : $1,2 \pm 0,2$ % (m/m), Eau potable : $1,3 \pm 0,2$ % (m/m), Dose 1 : $1,0 \pm 0,2$ % (m/m) et Dose 2 : $1,1 \pm 0,2$ % (m/m). (Mannane) Contrôle : $1,7 \pm 0,4$ % (m/m), Eau potable : $2,0 \pm 0,3$ % (m/m), Dose 1 : $2,0 \pm 0,5$ % (m/m) et Dose 2 : $1,8 \pm 0,1$ % (m/m).
Figure 3.4	Contrôle : $33,9 \pm 4,3$ % (m/m), Eau potable : $36,2 \pm 2,5$ % (m/m), Dose 1 : $39,5 \pm 3,8$ % (m/m) et Dose 2 : $38,2 \pm 2,9$ % (m/m).
Figure 3.5	Contrôle : $5,2 \pm 0,2$ % (m/m), Eau potable : $5,1 \pm 0,2$ % (m/m), Dose 1 : $5,3 \pm 0,2$ % (m/m) et Dose 2 : $5,2 \pm 0,3$ % (m/m).
Figure 3.6	Contrôle : $22,5 \pm 0,9$ % (m/m), Eau potable : $22,1 \pm 1,1$ % (m/m), Dose 1 : $22,8 \pm 1,0$ % (m/m) et Dose 2 : $23,2 \pm 0,8$ % (m/m).
Figure 3.7	(Contrôles) 30 min : $10,6 \pm 0,5$ % (m/m), 60 min : $15,7 \pm 0,7$ % (m/m), 120 min : $19,8 \pm 0,2$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $10,7 \pm 0,2$ % (m/m), 60 min : $15,8 \pm 0,3$ % (m/m), 120 min : $19,8 \pm 0,4$ % (m/m).

Figure 3.8	(Contrôles) 30 min : $10,5 \pm 0,1$ % (m/m), 60 min : $10,3 \pm 0,5$ % (m/m), 120 min : $10,4 \pm 0,4$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $6,9 \pm 1,2$ % (m/m), 60 min : $7,0 \pm 1,0$ % (m/m), 120 min : $6,9 \pm 1,2$ % (m/m).
Figure 3.9	(Contrôles) 30 min : $10,3 \pm 1,2$ % (m/m), 60 min : $8,8 \pm 0,5$ % (m/m), 120 min : $6,9 \pm 0,4$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $10,6 \pm 1,4$ % (m/m), 60 min : $8,3 \pm 0,5$ % (m/m), 120 min : $6,8 \pm 0,3$ % (m/m).
Figure 3.10	(Contrôles) 30 min : $10,6 \pm 0,5$ % (m/m), 60 min : $15,7 \pm 0,7$ % (m/m), 120 min : $19,8 \pm 0,2$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $10,7 \pm 0,2$ % (m/m), 60 min : $15,8 \pm 0,3$ % (m/m), 120 min : $19,8 \pm 0,4$ % (m/m).
Figure 3.11	(Contrôles) 30 min : 0 ± 0 % (m/m), 60 min : 0 ± 0 % (m/m), 120 min : 0 ± 0 % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : 0 ± 0 % (m/m), 60 min : 0 ± 0 % (m/m), 120 min : 0 ± 0 % (m/m).
Figure 3.12	(Contrôles) 30 min : $2,1 \pm 0,4$ % (m/m), 60 min : $1,9 \pm 0,6$ % (m/m), 120 min : $1,8 \pm 0,8$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $2,0 \pm 0,4$ % (m/m), 60 min : $1,8 \pm 0,4$ % (m/m), 120 min : $1,7 \pm 1,2$ % (m/m).
Figure 3.13	(Contrôles) 30 min : $35,1 \pm 4,2$ % (m/m), 60 min : $40,6 \pm 2,1$ % (m/m), 120 min : $43,4 \pm 1,4$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $38,7 \pm 4,2$ % (m/m), 60 min : $41,4 \pm 2,2$ % (m/m), 120 min : $44,1 \pm 1,7$ % (m/m).
Figure 3.14	(Contrôles) 30 min : $4,2 \pm 0,2$ % (m/m), 60 min : $3,80 \pm 0,03$ % (m/m), 120 min : $3,1 \pm 0,1$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $4,5 \pm 0,1$ % (m/m), 60 min : $3,7 \pm 0,2$ % (m/m), 120 min : $3,4 \pm 0,2$ % (m/m).
Figure 3.15	(Contrôles) 30 min : $23,6 \pm 0,5$ % (m/m), 60 min : $26,0 \pm 1,0$ % (m/m), 120 min : $27,1 \pm 0,8$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $24,4 \pm 0,6$ % (m/m), 60 min : $26,2 \pm 1,1$ % (m/m), 120 min : $27,4 \pm 0,6$ % (m/m).
Figure 3.16	(Contrôles) 30 min : $0,7 \pm 0,05$ % (m/m), 60 min : $1,43 \pm 0,05$ % (m/m), 120 min : $2,29 \pm 0,13$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $0,61 \pm 0,02$ % (m/m), 60 min : $1,33 \pm 0,08$ % (m/m), 120 min : $2,08 \pm 0,24$ % (m/m).
Figure 3.17	(Contrôles) 30 min : $0,2 \pm 0,01$ % (m/m), 60 min : $0,44 \pm 0,04$ % (m/m), 120 min : $0,77 \pm 0,03$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $0,2 \pm 0,01$ % (m/m), 60 min : $0,43 \pm 0,03$ % (m/m), 120 min : $0,7 \pm 0,06$ % (m/m).

Figure 3.18	(Contrôles) 30 min : 175 ± 22 mg/kg, 60 min : 617 ± 33 mg/kg, 120 min : 2353 ± 111 mg/kg. (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : 171 ± 12 mg/kg, 60 min : 635 ± 17 mg/kg, 120 min : 2261 ± 79 mg/kg.
Figure 3.19	(Contrôles) 30 min : 15 ± 2 mg/kg, 60 min : 58 ± 4 mg/kg, 120 min : 203 ± 7 mg/kg. (Eaux usées « Dose 2 ») 30 min : $17,0 \pm 0,4$ mg/kg, 60 min : 60 ± 3 mg/kg, 120 min : 206 ± 15 mg/kg.
Figure 3.20	(Contrôles) 1,2 % : $49,5 \pm 1,1$ % (m/m), 2,5 % : $42,5 \pm 1,7$ % (m/m), 5,2 % : $36,4 \pm 0,8$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 1,2 % : $53,0 \pm 1,6$ % (m/m), 2,5 % : $44,4 \pm 2,0$ % (m/m), 5,2 % : $39,5 \pm 0,5$ % (m/m).
Figure 3.21	(Contrôles) 1,2 % : $7,4 \pm 0,9$ % (m/m), 2,5 % : $14,9 \pm 2,2$ % (m/m), 5,2 % : $23,4 \pm 1,3$ % (m/m). (Eaux usées « Dose 2 ») 1,2 % : $7,2 \pm 0,5$ % (m/m), 2,5 % : $17,2 \pm 2,2$ % (m/m), 5,2 % : $24,4 \pm 1,5$ % (m/m).