
LA LIGNINE

Note de synthèse (22 novembre 2010)

Jean-Luc WERTZ



Document ValBiom – Gembloux Agro-Bio Tech

*Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4
Réf.2010_XX_XX*



Table des matières

- 1. Introduction**
- 2. Principales sources industrielles**
- 3. Structure moléculaire**
- 4. Biosynthèse**
 - 4.1 Evolution dans la nature
 - 4.2 Transport et polymérisation
 - 4.3 Tendances de recherche liées à la biosynthèse
- 5. La lignine dans les parois cellulaires végétales**
- 6 Dégradation**
 - 6.1 Champignons produisant des enzymes lignocellulolytiques
 - 6.2 Ligninases extracellulaires des champignons
 - 6.2.1 Phénol oxydases (laccases)
 - 6.2.2 Peroxydases à hème
 - 6.2.2.1 Peroxydases de lignine
 - 6.2.2.2 Manganèse peroxydases
 - 6.2.2.3 Peroxydases versatiles
 - 6.2.3 Enzymes accessoires
 - 6.3 Mécanismes d'oxydation de la dégradation de la lignocellulose
- 7. Propriétés et applications**

1. Introduction

La biomasse lignocellulosique, appelée parfois simplement biomasse, est constituée de trois composants majeurs: la cellulose (polysaccharide linéaire de glucose), les hémicelluloses (polysaccharides branchés de sucres à 5 et 6 atomes de carbone) et la lignine (un polymère complexe aromatique). Elle comprend notamment les arbres et les herbes et représente la grande majorité de la biomasse, définie comme tout matériau d'origine biologique à l'exception des matériaux enfouis dans les formations géologiques ou fossilisés. En moyenne, la biomasse lignocellulosique contient 40-60 % de cellulose, 20-40 % d'hémicelluloses et 10-25 % de lignine (**Figure 1**).¹

¹ http://www1.eere.energy.gov/biomass/feedstock_glossary.html

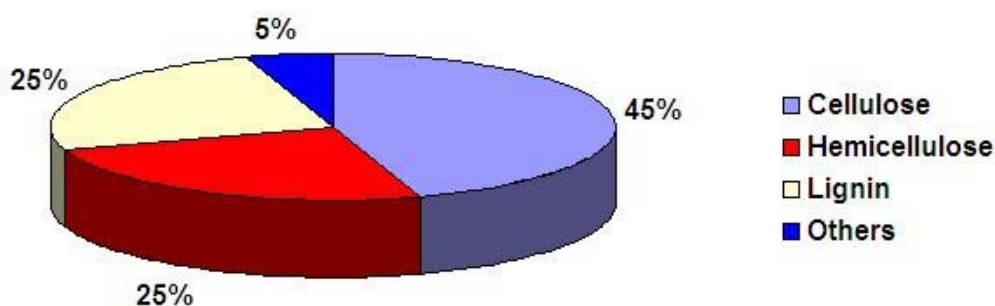


Figure 1 Composition typique de la biomasse lignocellulosique

La valorisation de la lignine est une des pistes importantes qu'entendent explorer chercheurs et industriels. D'un point de vue économique, il y a une grande cohérence à valoriser toutes les parties de la plante dans une approche intégrée de bioraffinage, qui peut être défini comme le processus durable de transformation de la biomasse en produits biobasés et en bioénergie. Dans une bioraffinerie traditionnelle, la lignine extraite de la lignocellulose est utilisée comme combustible dans une chaudière afin de produire de la vapeur et de l'électricité. A noter ici que le pouvoir calorifique de la lignine, qui contient plus de carbone que la cellulose et les hémicelluloses, est plus élevé que celui des deux autres constituants de la biomasse (**Tableau 1**).

Tableau 1 Pouvoir calorifique massique des principaux constituants de la biomasse²

Composant	Pouvoir calorifique (MJ/kg)
Cellulose et hémicelluloses	17,46
Lignine	26,63

La lignine est présente principalement dans les plantes vasculaires (plantes qui possèdent un tissu vasculaire pour transporter l'eau et les éléments nutritifs depuis les racines jusqu'aux feuilles) et dans quelques algues. Sa composition varie avec l'espèce végétale. Afin de situer les plantes vasculaires dans la division des plantes vertes, il peut être utile de montrer une classification générale de ces plantes basée sur le projet « Tree of Life » (**Figure 2**) et ensuite, afin de distinguer les différents types de lignine suivant l'espèce, de montrer une classification plus détaillée des plantes à fleurs ou angiospermes, qui représentent un tournant dans l'évolution botanique (**Figure 3**).³

² G. SARLOS, P.A. HALDI et P. VERSTRAETE, *Traité de Génie civil de l'EPFL, Volume 21, Systèmes énergétiques*, 2003

³ R. M. MCCOURT, R. L. CHAPMAN, M. BUCHHEIM, and B. D. MISHLER in the Tree of Life Web Project, http://tolweb.org/tree?group=Green_plants&contgroup=Eukariotes

Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

Réf.2010_XX_XX

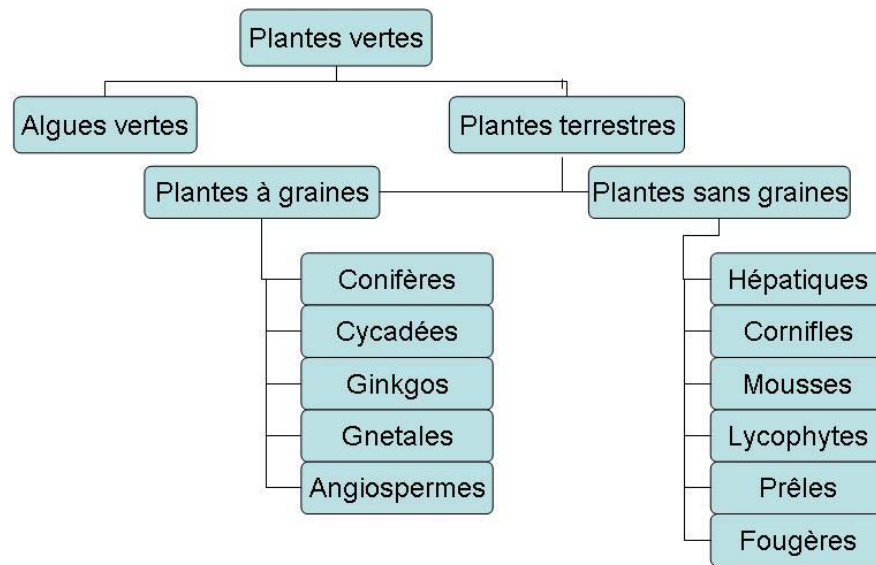


Figure 2 Classification des plantes vertes

Les plantes vertes comprennent les algues vertes et les plantes terrestres. Les plantes terrestres, aussi appelées plantes supérieures, sont subdivisées en plantes à graines et plantes sans graines. Les plantes à graines incluent les angiospermes et un groupe connu sous le nom de gymnospermes qui inclut les conifères, les cycadées, les ginkgos et les gnetales. Les plantes sans graines comprennent notamment les hépatiques, les mousses, les lycophytes, les prêles et les fougères. Les plantes vasculaires incluent les plantes à graines ainsi que les fougères, les lycophytes et les prêles parmi les plantes sans graines.

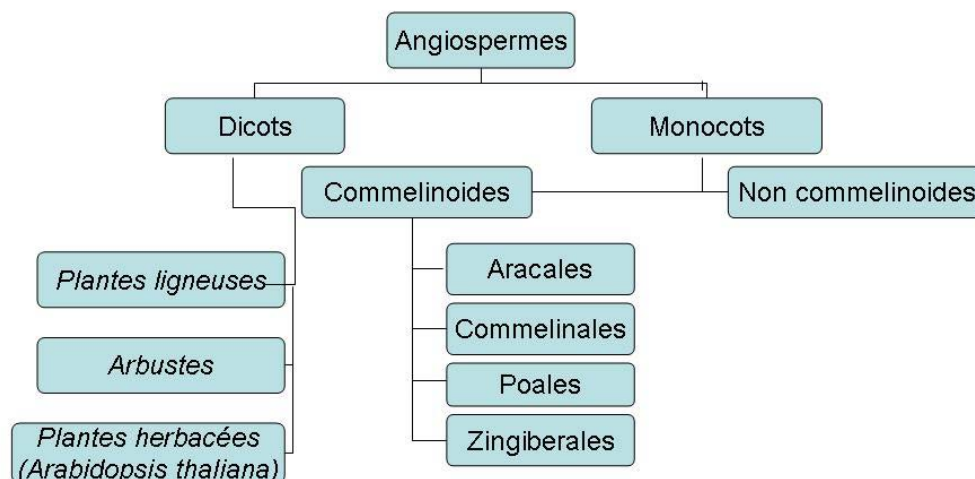


Figure 3 Classification des angiospermes (plantes à fleurs)

Les angiospermes comprennent les dicotylédones, appelés aussi dicots, et les monocotylédones, appelés aussi monocots. Les dicots sont représentés par (1) la majorité des angiospermes ligneuses telles que chêne, pommier et cerisier, (2) les arbustes tels que le lilas et (3) les plantes herbacées telles que la pomme de terre, la marguerite et l'*Arabidopsis thaliana* (une crucifère modèle au génome séquencé en 2000). Les herbes ou arbustes de coton rentrent aussi dans cette catégorie. Les monocots sont divisés en monocots commelinoides et monocots non commelinoides. Les monocots commelinoides comprennent notamment les Aracales (palmiers), les Commelinales et les Poales (graminées et roseaux). La famille des graminées comprend les céréales ainsi que les plantes à foin et à pâturage. Les monocots non commelinoides incluent les lis et les orchidées.

2. Principales sources industrielles

La lignine utilisée dans des applications en tant que polymère provient historiquement essentiellement des liqueurs noires issues des deux procédés de fabrication de pâtes papetières: le procédé au sulfate (ou procédé kraft), et le procédé au sulfite.^{4, 5} Selon l'utilisation d'un procédé ou l'autre, on obtient respectivement la lignine kraft (ou thiolignine) ou les lignosulfonates. D'autres lignines existent encore comme celles qui proviennent des procédés "Organosolv" mais les capacités sont beaucoup plus réduites. On estime qu'environ 160 millions de t/an de pâte chimique de cellulose sont produites dans le monde, conduisant à environ 50 millions de t/an de lignine.⁶ La plus grande partie de cette lignine résiduelle est brûlée pour générer de l'énergie pour les usines de fabrication de la pâte.

3. Structure moléculaire

La lignine est le terme générique d'un vaste groupe de polymères aromatiques. Elle constitue le seul groupe de polymères biosynthétisés à squelette aromatique. Ces polymères sont déposés principalement dans les parois secondaires des cellules, les rendant rigides et imperméables. La lignine, qui protège les polysaccharides de la paroi cellulaire de la dégradation microbienne en leur conférant une résistance à la pourriture, est par la même occasion un des facteurs limitants les plus importants à la conversion de la biomasse en pâte à papier ou en biocarburants.

La lignine est issue de la polymérisation des alcools *p*-coumarylique, coniférylique et sinapylique (voir **Figure 7**), qui sont des monolignols, ou 4-hydroxyphénylpropanoïdes, dérivés d'un acide aminé, la phénylalanine (**Figure 4**). La polymérisation s'effectue par une radicalisation oxydative des monolignols suivie d'un couplage radicalaire combinatoire.⁷

⁴ J. REGUANT et M. RINAUDO, *Etude bibliographique sur les matériaux issus de la biomasse végétale*, CNRS, CERMAV, 1999 dans http://www.cermav.cnrs.fr/etat_art/revue_mater_issus_biomasse.pdf

⁵ Guide de développement, *Le bioraffinage forestier, Possibilité pour les entreprises québécoises de pâtes et papiers* dans <http://www.biorefinery.ws/doc/outils/Bioraffinage-forestier.pdf>

⁶ [http://en.wikipedia.org/wiki/Pulp_\(paper\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Pulp_(paper))

⁷ F.R.D. VAN PARIJS, K. MOREEL, J. RALPH, W. BOERJAN and R.M.H. MERKS, *Plant Physiol.* **153**, 1332, 2010 in <http://www.plantphysiol.org/cgi/content/full/153/3/895>

Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

Réf.2010_XX_XX

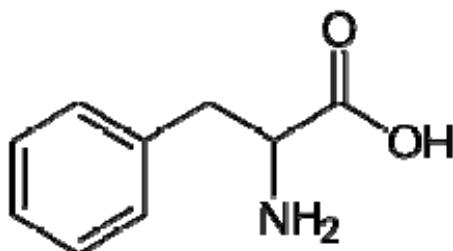


Figure 4 Phénylalanine

Les premières étapes de la biosynthèse des monolignols s'effectuent dans le cytosol. Trois groupes de réactions permettent de convertir la phénylalanine en monolignols:⁸

- la désamination de la chaîne latérale avec formation d'une double liaison, conduisant à l'acide cinnamique (**Figure 5**), suivie de l'hydroxylation du cycle en position para, avec formation d'acide *p*-coumarique (**Figure 6**), et de la thioestérification du groupe carboxyle par la Coenzyme A (formation du *p*-coumaroyl-CoA) ;
- la réduction de la fonction thioester en aldéhyde, puis en alcool (**Figure 7**)
- l'introduction de groupements méthoxyles.

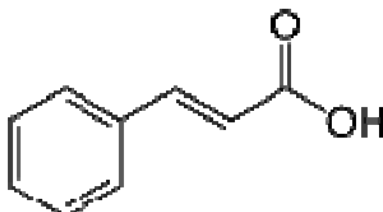


Figure 5 Acide cinnamique

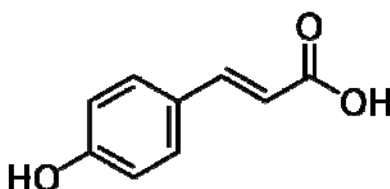


Figure 6 Acide *p*-coumarique

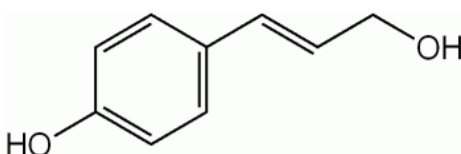


Figure 7 Alcool *p*-coumarylique

Les premières étapes allant de l'acide aminé au *p*-coumaroyl-CoA constituent la voie commune de biosynthèse des phénylpropanoïdes, dont font partie les lignines et d'autres phénols végétaux tels flavonoïdes et dérivés d'acides *p*-hydroxycinnamiques.⁸ Les étapes suivantes sont spécifiques de la lignification. La formation des alcools *p*-

⁸ L. JOUANIN, *Biologie moléculaire de la lignification, l'art de faire des lignines à façon*, Académie d'Agriculture de France, 2010 dans <http://www.academie-agriculture.fr/mediatheque/seances/2010/20100217resume2.pdf>

coumarylique et coniférylique implique la réduction des dérivés cinnamoyl-CoA en cinnamaldehydes, puis celle des cinnamaldehydes en alcools cinnamyliques par la cinnamyl alcool déshydrogénase (CAD). L'alcool sinapylique serait majoritairement formé à partir du coniféraldéhyde grâce à une hydroxylation en position 5, puis la méthylation du groupe hydroxyle.

Les unités de base du polymère lignine qui résultent de la polymérisation des trois monolignols, alcool *p*-coumarylique, alcool coniférylique et alcool sinapylique (**Figure 8**), sont les unités *p*-hydroxyphényl (H), guaïacyl (G) et siryngyl (S).

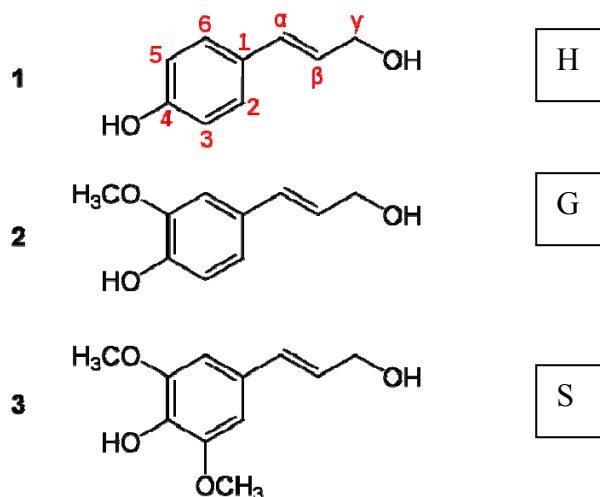


Figure 8 Les trois principaux monolignols qui donnent naissance à la lignine: **1** alcool *p*-coumarylique ; **2** alcool coniférylique ; **3** alcool sinapylique

Les trois monomères diffèrent par leur degré de méthylation des noyaux aromatiques. Les gymnospermes contiennent essentiellement l'unité G (avec de faibles quantités d'unités H). Les angiospermes dicotylédones contiennent les deux unités G et S (avec de faibles quantités d'unités H). Les angiospermes monocotylédones (herbes) contiennent les trois unités H, G et S. Des unités moins abondantes ont été identifiées dans de nombreuses espèces et peuvent être incorporées dans le polymère à différents niveaux. La composition de la lignine varie non seulement avec l'espèce végétale mais aussi avec les tissus, (fibres, xylème...), la strate pariétale (lamelle moyenne, couches S1, S2, S3), l'âge des cellules et l'environnement (lignines de stress).⁸ Ainsi, des paramètres liés à la fois au développement et à l'environnement influencent la composition et, de là, la structure du polymère lignine.

Les unités dans la lignine sont liées par diverses liaisons chimiques qui ont des propriétés chimiques différentes. Ces liaisons peuvent être regroupées en deux classes :⁹

- Les liaisons labiles de type β -O-4, point faible des lignines et cible des procédés de délignification industrielle, qui impliquent plus particulièrement les unités S.
- Les liaisons résistantes, telles que les liaisons biphényles, qui impliquent les unités G et H.

⁹ C. LAPIERRE, *Les lignines, des polymères uniques au monde*, Académie d'Agriculture de France dans <http://www.academie-agriculture.fr/mediatheque/seances/2010/20100217resume1.pdf>

Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

Réf.2010_XX_XX

La complexité des lignines provient de l'association des trois monolignols par différentes liaisons chimiques sans caractère ordonné ni répétitif pour former un polymère amorphe et hydrophobe (**Figure 9**).¹⁰

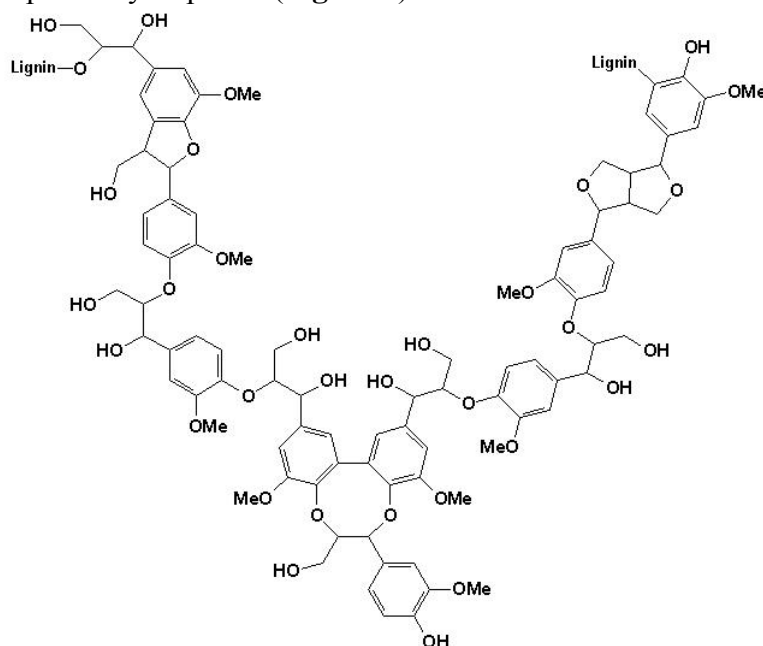


Figure 9 Structure d'une lignine

4 Biosynthèse

4.1 Evolution dans la nature

Il est communément accepté que la lignine s'est développée en même temps que l'adaptation des plantes à une vie terrestre afin de leur procurer le support structurel nécessaire à une croissance verticale (**Tableau 2**).¹¹

Tableau 2 Distribution de la composition en monomères de lignine à travers les principales lignées

Catégorie d'organismes	Composition
Plantes vasculaires - Monocots	H+G+S
Plantes vasculaires - Dicots	H+G+S
Plantes vasculaires - Gymnospermes	H+G
Plantes vasculaires - Fougères	H+G
Plantes non vasculaires - Mousses	? (1)
Plantes non vasculaires - Algues vertes	? (1)
Protistes - Algues rouges	? (1)
Protistes - Algues rouges <i>Calliarthron</i>	H+G+S

(1) Des structures proches de la lignine ont été rapportées dans certaines mousses et algues vertes mais la présence de réelle lignine dans ces espèces non vasculaires reste à démontrer ; les algues rouges ont été à peine étudiées.

¹⁰ J.F. MOROT-GAUDRY, Les Lignines, Introduction, Académie d'Agriculture de France, 2010 dans <http://www.academie-agriculture.fr/mediatheque/seances/2010/20100217introduction.pdf>

¹¹ R. VANHOLME, B. DEMEDTS, K. MORREEL, J. RALPH and W. BOERJAN, Plant Physiol. **153**, 895, 2010 in <http://www.plantphysiol.org/cgi/content/full/153/3/895>

Des études génomiques comparatives indiquent que la voie biosynthétique quasi complète de la lignine apparut d'abord dans les mousses mais fut absente dans les algues vertes. Cependant, des études récentes ont détecté des parois secondaires et de la lignine dans l'algue rouge marine *Calliarthron*. Sachant que les algues rouges et les plantes vasculaires divergèrent il y a plus d'un milliard d'années, cette présence de lignine dans l'algue *Calliarthron* indique probablement une évolution convergente dans l'architecture de la paroi cellulaire. En faveur de cette hypothèse, les parallèles entre *Calliarthron* et les angiospermes sont évidents: la lignine dans la paroi secondaire de *Calliarthron* peut s'être développée pour résister aux tensions de flexion imposées par les vagues, de manière similaire à la lignine des parois des plantes vasculaires qui procure un support biomécanique.

4.2 Transport et polymérisation

Après leur biosynthèse dans le cytosol, les monolignols sont transportés à la paroi cellulaire par un mécanisme qui demeure inconnu.¹¹ Dans un modèle, les monolignols sont transportés de l'autre côté de la membrane plasmique sous leurs formes 4-O-glucosylées, qui sont déglucosylées à leur arrivée par des glucosidases situées dans la paroi cellulaire. Suivant un autre modèle, les monolignols sont transportés à la membrane plasmique par des vésicules de Golgi. A présent, il n'y a pas d'évidence en faveur d'une ou l'autre hypothèse.

La polymérisation de la lignine s'effectue par radicalisation oxydative des phénols, suivie d'un couplage radicalaire combinatoire.¹¹

Dans une première étape, la fonction phénolique des monolignols est oxydée, c.-à-d. déshydrogénée. Le radical phénoxy résultant est relativement stable en raison de la délocalisation de l'électron non-apparié dans le système conjugué entre les positions préférentielles 4, 5 et β (voir **Figure 8**).

Dans une seconde étape, deux radicaux monomères peuvent se coupler spontanément, établissant ainsi une liaison covalente entre les deux unités. Les radicaux monolignols favorisent leur couplage en leur position β , ce qui entraîne principalement la formation de dimères β - β , β -O-4 (β -aryl éther) et β -5 (voir **Figure 8**). Ce couplage radical-radical se produit d'une manière chimique combinatoire ; ainsi, la fraction de chacun des couplages possibles dépend de la nature chimique de chacun des monomères et des conditions dans la paroi cellulaire. Ensuite, le dimère doit être déshydrogéné en un radical phénolique avant qu'il puisse se coupler à un autre radical monomère. Ce mode d'action suivant lequel un monomère (radical) s'ajoute au polymère en croissance s'appelle couplage bout à bout : le polymère croît d'une unité à la fois.

Les proportions des principales liaisons inter-unités pour l'épicéa et le bouleau sont données au **Tableau 3**.^{12, 13} La liaison β -O-4 est la plus fréquente dans les lignines naturelles.

¹² <http://dwb4.unl.edu/Chem/CHEM869E/CHEM869ELinks/www.chem.vt.edu/chem-dept/helm/3434WOOD/notes1/lignin.html>

¹³ C. LAPIERRE, B. POLLET et C. ROLANDO, *New insights into the molecular architecture of hardwood lignins by chemical degradative methods*, Res. Chem. Intermed. **21**, 397, 1995 dans <http://www.springerlink.com/content/t307k06420k745r3>

Tableau 3 Proportions des principales liaisons entre unités de la lignine pour l'épicéa et le bouleau¹²

Type de liaison	Structure du dimère	Epicéa (%)	Bouleau (%)
β -O-4	Arylglycerol- β -aryl éther	50	60
β -5	Phénylcoumaran	10	6
β - β	Pinoresinol	5	5
5-5	Biphényl	10	5
5-O-4	Diaryl éther	5	5

Le couplage entre deux oligomères est rare dans les lignines S/G mais relativement fréquent dans les lignines G. Durant chaque réaction de couplage, deux radicaux sont consommés (dans une réaction de terminaison), rendant ce type de polymérisation radicalaire différent des réactions en chaîne radicalaires d'un grand nombre de polymères industriels. La longueur moyenne d'une chaîne linéaire de lignine dans le peuplier est estimée entre 13 et 20 unités.¹¹

La déshydrogénation des monolignols fait intervenir des peroxydases et/ou des laccases (**Figure 10**).¹¹

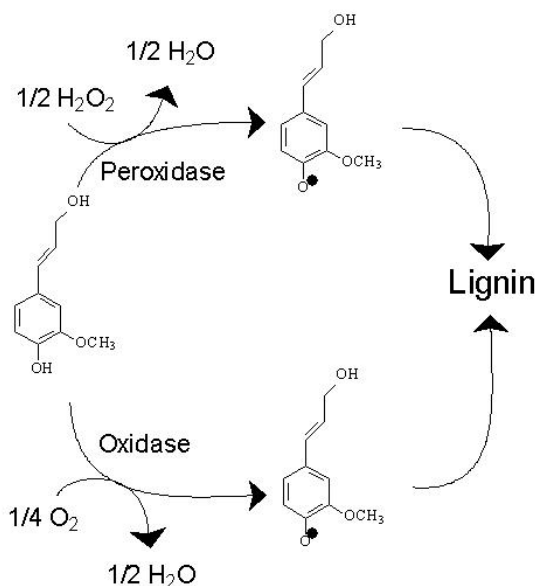


Figure 10 Déshydrogénation des monolignols (ici l'alcool coniférylique) par des peroxydases et des oxydases (laccases) à l'origine de la polymérisation de la lignine

Tandis que les peroxydases utilisent le peroxyde d'hydrogène comme accepteur d'électron, les laccases utilisent l'oxygène afin d'oxyder leurs centres métalliques et ainsi d'être capable d'une oxydation catalytique. Les deux types d'enzymes appartiennent à de grandes familles de gènes dont les membres ont des activités qui se

chevauchent, rendant le processus difficile à étudier dans les plantes. Les peroxydases peuvent différer dans leur affinité pour le substrat. Parce que la structure de la lignine dépend de la disponibilité des radicaux monolignols, la spécificité des peroxydases peut déterminer en partie la structure des polymères finaux de lignine. Quoique les monolignols puissent être déshydrogénés directement via l'interaction avec une enzyme qui enlève des électrons, les radicaux peuvent aussi être générés par transfert radicalaire. En conclusion, le présent modèle de lignification implique des peroxydases et/ou des laccases pour fournir la capacité oxydante dans la paroi cellulaire. Tous les composés phénoliques qui entrent dans la paroi cellulaire auront le potentiel de devenir des radicaux et ainsi de s'incorporer dans le polymère de lignine en fonction de leur oxydation chimique et de leur propension au couplage. Ce modèle de lignification explique aussi pourquoi de nombreuses autres molécules phénoliques peuvent être intégrées dans le polymère de lignine en croissance, et ouvre la voie à la synthèse de lignines à des fins industrielles.

4.3 Tendances de recherche liées à la biosynthèse

Une nouvelle tendance de recherche dans le domaine de la lignine est de concevoir des voies biosynthétiques conduisant à la synthèse de molécules qui, après incorporation dans le polymère de lignine, vont faciliter la dégradation de la lignine. Ce concept de polymériser des monomères alternatifs de lignine pourrait résulter dans des prétraitements moins exigeants en énergie pour rendre la cellulose accessible.¹¹

Une recherche des facteurs qui déterminent la structure de la lignine et sa dégradabilité peut être obtenue par modélisation mathématique. Un modèle mathématique a été développé qui prévoit notamment la fréquence des différentes liaisons, le nombre des différents polymères et leurs longueurs.

Enfin, quoique de nombreuses études aient démontré les effets positifs de l'ingénierie de la lignine sur les applications finales, telles que procédés de fabrication de pâtes papetières et saccharification au laboratoire, peu d'études ont évalué les plantes modifiées sur le terrain. Des essais sur le terrain pour examiner les effets de la lignine en quantité réduite dans la biomasse sur la conversion de cette dernière en éthanol ont récemment été initiés. Avec l'émergence d'une économie biobasée, la libération aisée de sucres à partir de la paroi cellulaire est de plus en plus importante.

5 La lignine dans les parois cellulaires végétales

Les parois cellulaires secondaires des tissus du bois et des herbes sont composées majoritairement de cellulose, d'hémicelluloses et de lignine.¹⁴ Les microfibrilles cellulosiques sont intégrées dans un réseau d'hémicelluloses et de lignine. La réticulation de ce réseau résulte vraisemblablement dans l'élimination de l'eau de la paroi et la formation d'un composite hydrophobe qui limite l'accessibilité des enzymes hydrolytiques et contribue aux caractéristiques structurelles des parois secondaires.

La lignine contribue à la rigidité des parois cellulaires, et ainsi au port érigé des végétaux supérieurs terrestres.¹⁰ Ainsi par leurs propriétés, les lignines ont permis, au cours de l'évolution, le passage du port rampant (mousses) au port dressé (arbres) plus

¹⁴ Complex Carbohydrate Research Center, The University of Georgia

<http://www.crcr.uga.edu/~mao/intro/outline.htm>

Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

Réf.2010_XX_XX



favorable à la capture de la lumière. De plus, leur implication dans la constitution du système vasculaire, vaisseaux et trachéïdes, a contribué à la constitution d'un système de circulation de la sève brute (eau et sels minéraux). Leur hydrophobicité contribue également à une meilleure conduction de la sève brute. La lignine est donc caractéristique des végétaux vasculaires. On estime que cette transition du port rampant au port érigé s'est produite il ya environ 350 millions d'années. Les lignines offrent, de plus, une barrière de protection contre l'attaque microbienne du végétal. En effet, de par sa nature chimique, la lignine est très résistante à divers agents chimiques et à la dégradation biologique (voir section 6).

En résumé, les polymères de lignine rendent la paroi cellulaire rigide et imperméable, permettant le transport de l'eau et des éléments nutritifs à travers le système vasculaire et protégeant les plantes de l'invasion microbienne.¹⁵ La lignine, cependant, est un des obstacles majeurs à la conversion de la biomasse lignocellulosique en carburants et produits chimiques biobasés.

6 Dégradation

La lignine, est extrêmement résistante à la dégradation.¹⁶ En formant des liaisons à la fois avec la cellulose et les hémicelluloses, elle crée une barrière à toutes les solutions ou enzymes, et empêche la pénétration des enzymes lignocellulosiques au sein de la structure lignocellulosique. Bien que la lignine résiste à l'attaque de la plupart des microorganismes, certains champignons basidiomycètes de la pourriture blanche sont capables de dégrader la lignine efficacement en employant une combinaison d'enzymes ligninolytiques extracellulaires, des acides organiques, des médiateurs et des enzymes accessoires.

6.1 Champignons produisant des enzymes lignocellulolytiques

Les champignons produisant des enzymes lignocellulolytiques sont répandus, et incluent des espèces des genres Ascomycètes (p.ex. *Trichoderma reesei*) et basidiomycètes comme la pourriture blanche (p.ex. *Phanerochaete chrysosporium*) et la pourriture brune (p.ex. *Fomitopsis palustris*).

De plus, quelques espèces anaérobiques peuvent dégrader la cellulose dans les voies gastro-intestinales des animaux ruminants. La dégradation de la biomasse par ces champignons est réalisée par des mélanges complexes de cellulases, hémicellulases et ligninases.

Dans la nature, la dégradation efficace de la lignine au cours du procédé de pourriture du bois est possible principalement par les champignons basidiomycètes de la pourriture blanche du bois. De nombreux champignons de la pourriture blanche attaquent simultanément la lignine, les hémicelluloses et la cellulose, tandis que d'autres champignons de la pourriture blanche attaquent la lignine de manière sélective. Les agents de dégradation sélectifs de la lignine peuvent avoir des applications potentielles biotechnologiques quand l'élimination de la lignine est requise pour obtenir de la

¹⁵ F.R.D. VAN PARIJS, K. MOREEL, J. RALPH, W. BOERJAN and R.M.H. MERKS, Plant Physiol. **153**, 1332, 2010 in <http://www.plantphysiol.org/cgi/content/full/153/3/1332>

¹⁶ M. DASHTBAN, H. SCHRAFT, T.A. SYED and W. QIN, Int. J. Biochem. Mol. Biol. **1**, 36, 2010 in <http://www.ijbmb.org/files/IJBMB1004005.pdf>

cellulose pure comme dans la bioprocédé de fabrication de pâtes papetières et dans les procédés où l'objectif est de fournir des polysaccharides non-protégés. Contrairement aux champignons de la pourriture blanche, les champignons de la pourriture brune peuvent dégrader les polysaccharides du bois, mais pas la lignine oxydée. Les Ascomycètes sont avant tout capables de dégrader la cellulose et les hémicelluloses, mais leur capacité de dégrader la lignine est limitée. Différents champignons pathogènes pour les plantes sont capables de dégrader la lignine par production de laccase et de peroxydases.

6.2 Ligninases extracellulaires des champignons

Les champignons dégradent la lignine en sécrétant des enzymes appelées collectivement ligninases. Les ligninases peuvent être classifiées en phénol oxydases (laccases) et en peroxydases à hème, qui sont elles-mêmes subdivisées en peroxydases de lignine, manganèse-peroxydases et peroxydases versatiles.

6.2.1 Phénol oxydases (laccases)

Les laccases (phénol oxydases, EC 1.10.3.2) sont des oxydoréductases glycosylées à cuivre qui utilisent O₂ pour oxyder divers composés aromatiques et non aromatiques à travers un mécanisme réactionnel catalysé par des radicaux. Ces enzymes catalysent la réaction suivante (**Equation 1**) :



Les laccases couplent la réduction de O₂ en deux molécules d'eau avec l'oxydation de nombreux substrats, tels que phénols, arylamines, anilines, thiols et lignines. Les laccases représentent une des plus anciennes enzymes jamais décrites.¹⁷ L'enzyme semble omniprésente dans les champignons de la pourriture blanche, et sa présence est moins fréquente dans les plantes. Les enzymes les mieux caractérisées proviennent du champignon *T. versicolor* et de l'arbre à laque japonais *R. vernicifera* (d'où le nom de laccase) (**Figure 11**). L'enzyme de la plante participe en même temps que les peroxydases à la biosynthèse de la lignine. Les laccases fongiques existent souvent comme isozymes (isoenzymes) avec des structures monomériques et dimériques. Des isozymes à la fois intracellulaire et extracellulaire peuvent être produits à partir d'un seul microorganisme. Les protéines monomériques ont une masse moléculaire allant de 50 à 110 kDa. Les laccases sont ~10-45 % glycosylées, l'enzyme fongique étant moins substituée que l'enzyme des plantes. Les structures tridimensionnelles de plusieurs laccases ont été rapportées. Toutes les laccases montrent une architecture similaire consistant en trois domaines, arrangés séquentiellement, d'une structure de type tonneau β.¹⁷

¹⁷ D.W.S. WONG, Appl. Biochem. Biotechnol. **157**, 174, 2009 in <http://www.udea.edu.co/portal/page/portal/bibliotecaSedesDependencias/unidadesAcademicas/CorporacionAcademicaAmbiental/BibliotecaDiseno/Archivos/StructureActionMechanismLigninolyticEnzymes.pdf>

Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

Réf.2010_XX_XX



Figure 11 Structure cristalline d'une laccase du champignon *Trametes versicolor* contenant les 4 cuivres.^{18, 19}

Le site actif est bien conservé. Il contient 4 ions cuivre qui sont les médiateurs du procédé redox : un ion cuivre de type-1, un ion cuivre de type-2 et deux ions cuivre de type-3, sur la base de la coordination du cuivre et des propriétés spectroscopiques. Les centres cuivre de type-2 et de type-3 sont proches l'un de l'autre et forment un cluster trinuécléaire de cuivre ; le site de type-1 contient un seul ion de cuivre de type-1 (**Figure 12**).²⁰

¹⁸ <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1gyc>

¹⁹ K. PIONTEK, M. ANTORINI and T. CHOINOWSKI, J. Biol. Chem. **277**, 37663, 2002 in <http://www.jbc.org/content/277/40/37663.short?cited-by=yes&legid=jbc:277/40/37663>

²⁰ UC Davis, ChemWiki, by University of California, *Laccase*, 2008 in http://chemwiki.ucdavis.edu/Wikitexts/UCD_Chem_124A%3A_Berben/Laccase/Laccase_1

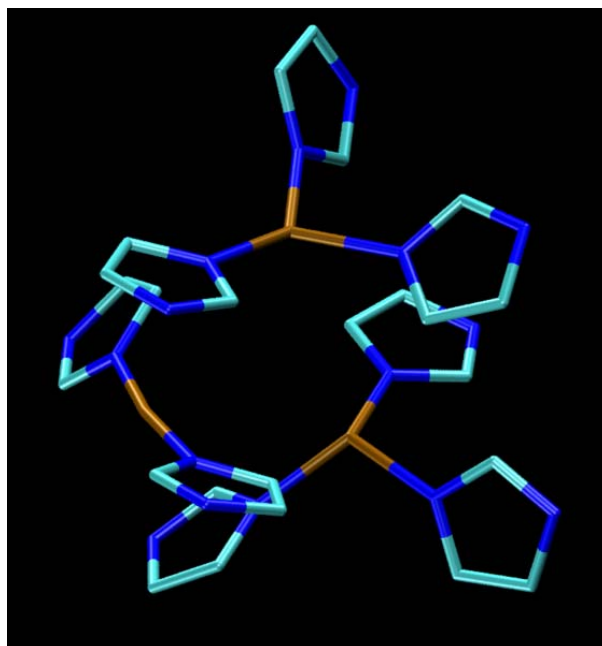


Figure 12 Le site à trois cuivres présent dans de nombreuses laccases ; Chaque centre cuivre est lié à l'imidazole (cuivre en brun, azote en bleu)²¹

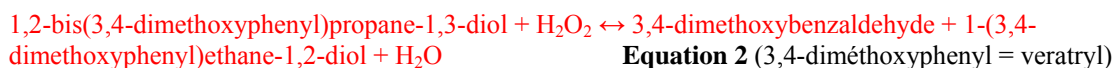
Les réactions d'oxydation catalysées par les laccases conduisent à la formation de radicaux libres qui agissent comme substrats intermédiaires pour les enzymes. Ces agents médiateurs peuvent quitter le site enzymatique et réagir avec des substrats à haut potentiel redox et ainsi créer des voies non enzymatiques de réactions de polymérisation ou dépolymérisation oxydante.

Comme les laccases agissent efficacement sur de nombreux substrats sans cofacteurs, elles peuvent être utiles dans de nombreuses applications biotechnologiques, tels que le bioprocédé de blanchiment de la pâte papetière, les biosenseurs, les industries alimentaires et textiles, l'assainissement des sols, et dans la production de polymères complexes.

6.2.2 Peroxydases à hème

6.2.2.1 Peroxydases de lignine

Les peroxydases de lignine (aussi appelées diarylpropane peroxydases, EC 1.11.1.14) sont des glycoprotéines contenant un hème et jouent un rôle crucial dans la biodégradation de la lignine.^{16, 17} Les enzymes catalysent la réaction générale (**Equation 2**) :



Les peroxydases de lignine catalysent la dépolymérisation oxydante, dépendante de H_2O_2 , de composés de lignine non phénoliques (diarylpropane), de composés modèles de lignine non phénoliques β -O-4 et de nombreux composés phénoliques avec un potentiel redox allant jusqu'à 1.4 V. Les peroxydases de lignine oxydent les substrats en

²¹ <http://en.wikipedia.org/wiki/Laccase>

plusieurs transferts d'électrons et forment des radicaux intermédiaires, tels que les radicaux phénoxy et les cations radicalaires de l'alcool veratrylique (alcool 3,4-diméthoxybenzylique). Ces radicaux intermédiaires connaissent des réactions non enzymatiques, telles que le couplage et la polymérisation radicalaires. Contrairement aux autres peroxydases, la peroxydase de lignine est capable d'oxyder des substrats aromatiques non phénoliques et ne requiert pas la participation de médiateurs vu son haut potentiel redox.

La peroxydase de lignine fut d'abord découverte dans le champignon *P. Chrysosporium*, et différentes isoformes existent dans ce microorganisme et d'autres champignons de la pourriture blanche.¹⁷ Les isozymes de peroxydase de lignine sont des glycoprotéines de 38-46 kDa. La peroxydase de lignine a une propriété distinctive d'un optimum de pH inhabituellement bas proche de pH 3. L'enzyme contient une mole de protoporphyrine IX de fer par mole de protéine (**Figure 13**).

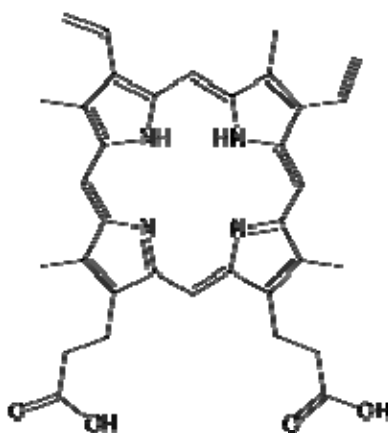


Figure 13 Protoporphyrine IX, $C_{34}H_{34}N_4O_4$, un dérivé de porphyrine qui se combine avec un atome de fer

La structure cristalline de la peroxydase de lignine de *P. Chrysosporium* a été décrite.²² L'enzyme est globulaire avec une dimension de 50x40x40 Å composé d'un domaine proximal (C-terminal) et un domaine distal (N-terminal) (**Figure 14**).

²² T. CHOINOWSKI, W. BLODIG, K.H. WINTERHALTER and K. PIONTEK, J. Mol. Biol. **286**, 809, 1999 in <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10024453>

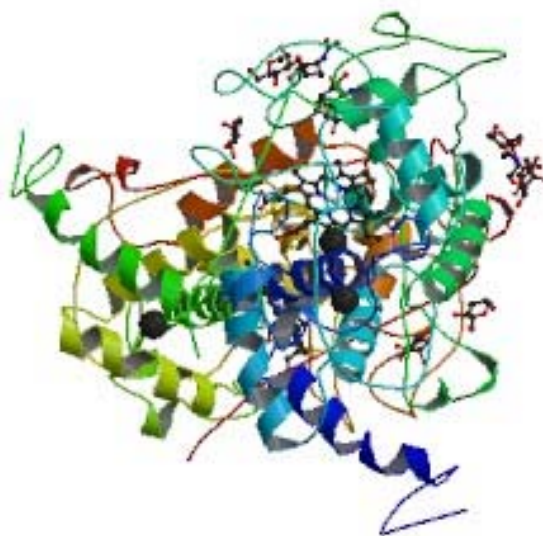
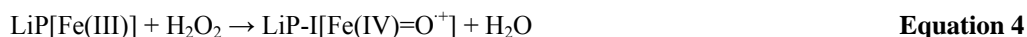


Figure 14 Structure d'une peroxydase de lignine fongique^{23, 22}

La structure cristalline de la peroxydase de lignine a montré que le groupe hème est enterré à l'intérieur de la protéine et a accès au milieu extérieur via un canal.²⁴ Quoique la taille du canal ne soit pas suffisante pour permettre aux grandes molécules de lignine d'avoir accès à l'hème, de petites molécules peuvent trouver un site de liaison convenable.¹⁶ L'enzyme contient huit hélices α majeures et huit hélices α mineures et une structure limitée β dans le domaine proximal.¹⁶ Plusieurs sites de glycosylation N et O peuvent être identifiés dans la structure cristalline. La peroxydase de lignine possède huit résidus cystéine formant tous des ponts disulfure. Sont aussi présents deux sites de liaison du calcium, un dans chaque domaine. L'atome de fer de l'hème est principalement pentacoordonné avec l'histidine du côté proximal comme cinquième ligand axial, et est stabilisé par liaison hydrogène avec l'histidine distal.

La peroxydase de lignine a un cycle catalytique typique des peroxydases. Le mécanisme de la réaction catalysée comprend deux étapes (**Equations 4 à 6**):¹⁷

- 1) Une oxydation à $2e^-$ de l'enzyme ferrique native [Fe(III), LiP] pour produire le composé I intermédiaire qui existe sous la forme d'un cation radical de porphyrine de Fe(IV) [Fe(IV)=O⁺, LiP-I], le peroxyde d'hydrogène étant scindé à la liaison O-O :



- 2) Une double réduction consécutive à $1e^-$ de LiP-I par des substrats donneurs d'électrons pour conduire à l'enzyme native. La première réduction par un substrat réducteur, tel que l'alcool vératrylique, conduit au composé II

²³ RCSB PDB *Lignin Peroxidase Isozyme LIP4.65 (PI 4.65)* in

<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1QPA>

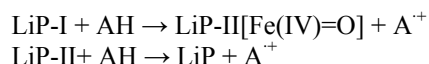
²⁴ K. PIONTEK, A.T. SMITH and W. BLODIG, *Biochem. Soc. Trans* **29**, 111, 2001 in

<http://www.biochemsoctrans.org/bst/029/0111/bst0290111.htm>

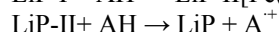
Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

Réf.2010_XX_XX

[Fe(IV)=O, LiP-II] et un cation radical. Une seconde réduction ramène l'enzyme au stade d'oxydation ferrique.



Equation 5



Equation 6

6.2.2.2 Manganèse peroxydases

Les manganèse peroxydases (Mn(II):peroxyde d'hydrogène oxydoréductases, EC 1.11.1.13) sont des glycoprotéines extracellulaires et sont secrétées en de multiples isoformes qui contiennent une molécule d'hème sous forme de protoporphyrine IX de fer.¹⁶ Les enzymes catalysent la réaction dépendante du manganèse suivante (**Equation 7**):¹⁷



Equation 7

Le fer de l'hème dans la protéine native est dans l'état ferrique, pentacoordonné, avec un résidu histidine coordonné comme cinquième ligand.¹⁷ La structure générale des manganèse peroxydases est similaire à celle des peroxydases de lignine, comprenant deux domaines avec l'hème en sandwich entre eux (**Figure 15**).

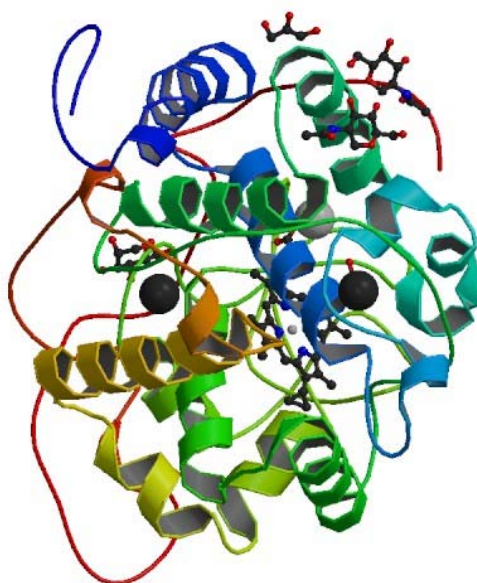


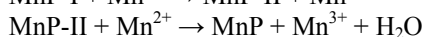
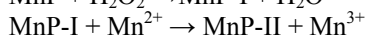
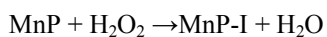
Figure 15 Structure de la manganèse peroxydase de *Phanerochaete chrysosporium*^{25, 26}

La protéine contient dix hélices majeures et une hélice mineure comme dans la peroxydase de lignine. Le Mn (II) est situé dans un site de liaison cationique à la surface de la protéine.

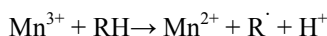
²⁵ RSCB PDB 0.93 Å structure of Manganese-Bound Manganese Peroxidase in <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3M5Q>

²⁶ M. SUNDARAMOORTHY, M.H. GOLD and T.L. POULOS, J. Inorg. Biochem. **104**, 683, 2010 in <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20356630>

Les manganèse peroxydases sont uniques dans la mesure où elles utilisent le Mn(II) comme substrat réducteur.¹⁷ L'enzyme oxyde Mn(II) en Mn(III), qui est ensuite libéré de l'enzyme en complexe avec l'oxalate ou avec d'autres agents de chélation.¹⁶ Le complexe de Mn(III) chélaté agit comme un médiateur redox réactif dans l'oxydation de substrats phénoliques tels que les simples phénols, les amines, les colorants, les sous-structures phénoliques de lignine et les dimères. Le potentiel d'oxydation du complexe Mn(III) est seulement limité aux structures phénoliques de lignine. Cependant, pour l'oxydation de substrats non phénoliques par Mn(III), des radicaux réactifs doivent être formés en présence d'un second médiateur. Des acides organiques, tels que oxalate et malonate, sont les composés primaires qui agissent comme médiateurs secondaires dans la production de radicaux réactifs. En absence de peroxyde d'hydrogène, ces radicaux peuvent être employés par les peroxydases de manganèse comme source de peroxydes et augmenter l'efficacité de dégradation de la lignine par les champignons. Le cycle catalytique comprend ainsi l'oxydation de Mn(II) par le composé manganèse peroxydase I (MnP-I) et le composé manganèse peroxydase II (MnP-II) pour générer Mn(III) (**Equations 8 à 10**):



Mn(III), à son tour, assure la médiation de l'oxydation de substrats organiques (**Equation 11**):



Les caractéristiques du cycle sont très similaires à celles des peroxydases de lignine. Les manganèse peroxydases sont sans doute capables de rivaliser avec les applications potentielles des laccases en biotechnologie.¹⁶ Ainsi, la présence de manganèse peroxydases peut augmenter le taux de décoloration des colorants. De plus, les manganèse peroxydases de la pourriture blanche sont considérées comme les principales enzymes responsables du bioblanchiment des pâtes kraft.

6.2.2.3 Peroxydases versatiles

Certaines manganèse peroxydases montrent des activités sur les substrats aromatiques similaires aux peroxydases de lignine.¹⁷ Ce groupe d'enzymes, connu comme peroxydases versatiles (EC 1.11.1.16), est non seulement capable d'oxyder Mn(II) en Mn(III) comme avec les manganèse peroxydases, mais aussi des substrats phénoliques et non phénoliques qui sont typiques des peroxydases de lignine.

La caractérisation moléculaire des peroxydases versatiles révèle des structures qui sont plus proches des peroxydases de lignine que des isozymes de manganèse peroxydases. Un site de liaison du Mn(II) existe à proximité du propionate interne de l'hème. De plus, des résidus impliqués dans l'interaction des peroxydases de lignine avec les substrats aromatiques existent aussi dans la structure de la protéine. Le modèle moléculaire de la peroxydase versatile de *P. eryngii* révèle 12 hélices, 4 liaisons disulfures, une poche pour l'hème contenant les histidines caractéristiques proximale et distal, 2 sites Ca²⁺ et un site de liaison du Mn(II) (**Figure 16**).

Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

Réf.2010_XX_XX



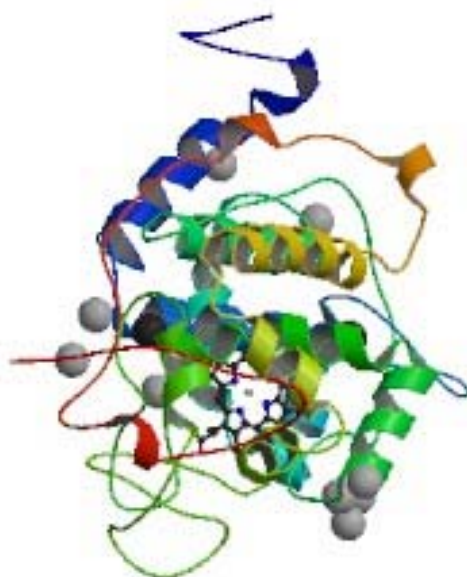


Figure 5.31 Structure de la peroxydase versatile^{27, 28}

Les peroxydases versatiles forment un groupe d'enzymes ligninolytiques intéressant en raison de leur versatilité catalytique.¹⁶ Ceci rend les peroxydases versatiles plus efficaces à la fois que les peroxydases de lignine, qui ne peuvent oxyder efficacement les composés phénoliques en absence d'alcool veratrylique, et les manganèse peroxydases, qui ne peuvent oxyder les phénols en absence de Mn(II). De manière similaire au mécanisme avec les manganèse peroxydases, Mn(III) est libéré des peroxydases versatiles et agit comme un oxydant de la lignine phénolique et des substrats phénoliques libres. Comme d'autres membres des peroxydases à hème, l'hème est enterré à l'intérieur de la protéine et a accès au milieu extérieur via deux canaux. La fonction du premier canal est similaire à celle décrite pour les peroxydases de lignine et est conservée pour toutes les peroxydases à hème. Au contraire, le second canal est spécifique aux peroxydases versatiles et aux manganèse peroxydases, et se situe là où l'oxydation de Mn(II) en Mn(III) a lieu.

6.2.3 Enzymes accessoires

Outre les ligninases, d'autres enzymes extracellulaires fongiques, qui agissent comme enzymes accessoires, sont impliquées dans la dégradation de la lignine.¹⁶ Ces enzymes incluent des oxydases générant du peroxyde d'hydrogène nécessaire aux peroxydases, et des déshydrogénases, qui réduisent les composés dérivés de la lignine. Les oxydases générant du peroxyde d'hydrogène comprennent l'aryl alcool oxydase et la glyoxal oxydase. De plus, des aryl alcool déshydrogénases et des quinone réductases sont aussi impliqués dans la dégradation de la lignine. Enfin, la cellulose déshydrogénase est aussi

²⁷ <http://www.pdb.org/pdb/explore.do?structureId=2BOQ>

²⁸ M. PEREZ-BOADA, F.J. RUIZ-DUENAS, R. POGNI, R. BASOSI, T. CHOINOWSKI, M.J. MARTINEZ, K. PIONTEK and A.T. MARTINEZ, *J. Mol. Biol.* **354**, 385, 2005 in <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16246366?dopt=Abstract>

impliquée dans la dégradation de la lignine en présence de peroxyde d'hydrogène et d'ions de fer chélatés.

6.3 Dégradation par oxydation (non lignocellulolytique) de la lignocellulose

Des études au cours des dernières décennies ont prouvé l'existence de mécanismes non lignocellulolytiques dans la dégradation des polysaccharides des plantes. Ces mécanismes font généralement intervenir une oxydation via la production de radicaux libres hydroxyles (OH^\cdot). De nombreux champignons de la pourriture blanche et brune produisent du peroxyde d'hydrogène qui rentre dans la réaction de Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\cdot$) pour conduire à la formation de radicaux hydroxyles. En attaquant les polysaccharides et la lignine, ces radicaux créent des clivages qui facilitent la pénétration des enzymes lignocellulolytiques dans la paroi cellulaire. Les mécanismes par lesquels les champignons génèrent des radicaux hydroxyles libres sont les réactions catalysées par la cellulose déshydrogénase, le cycle redox peptides/quinone et les réactions de Fenton catalysées par les glycopeptides.

La cellulose déshydrogénase, une protéine monomérique extracellulaire, a été identifiée dans de nombreux champignons basidiomycètes (principalement les champignons de la pourriture blanche) et dans les filtrats de culture de microorganismes cellulolytiques et non ligninolytiques.^{29, 16} Cette enzyme est capable d'oxyder le cellobiose, les cellodextrines, et autres disaccharides ou oligosaccharides avec des liaisons β -1,4. De plus, la cellulose déshydrogénase existe tantôt avec un module de liaison à la cellulose (CBM), tantôt sans ce module. Il est maintenant admis que la cellulose déshydrogénase est capable de dégrader et modifier les trois constituants majeurs de la biomasse en produisant des radicaux hydroxyles libres dans une réaction de type Fenton.

Les champignons de la pourriture blanche et brune peuvent produire des chélatants de bas poids moléculaire qui sont capables de pénétrer dans la paroi cellulaire.¹⁶ Ainsi, un peptide de bas poids moléculaire peut dégrader la cellulose en courtes fibres par une réaction d'oxydation. Certains de ces composés de bas poids moléculaires sont des quinones, qui doivent d'abord être converties en hydroquinones avant que des radicaux hydroxyles libres puissent être produits dans la réaction de Fenton.

Des glycopeptides ont été identifiées dans de nombreux champignons de la pourriture blanche et brune. De manière similaire aux autres mécanismes, les glycopeptides peuvent catalyser des réactions redox et ainsi produire des radicaux hydroxyles libres.¹⁶

7. Propriétés et applications

Comme biopolymère, la lignine est inhabituelle en raison de son hétérogénéité et de son manque de structure primaire définie. La lignine est la colle qui maintient les parois cellulaires ensemble et est la seule source de carbone aromatique généré dans la Nature.³⁰

²⁹ S.D. MANSFIELD, E. DE JONG and J.N. SADDLER, *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 3804, 1997 in <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1389261/pdf/hw3804.pdf>

³⁰ D. MEIER, *Catalytic Hydrocracking of Lignins to Useful Aromatic Feedstocks*, DGMK Conference, Berlin, 2008 in http://www.dgmk.de/petrochemistry/abstracts_content16/Meier.pdf

La lignine est un polymère amorphe tridimensionnel composé de structures phénylpropane méthoxylées.^{31, 32, 33} C'est un polymère thermoplastique qui peut être mis en oeuvre avec la plupart des thermoplastiques pour faire des composites.³⁴ Généralement, les lignines de bois tendre ont un T_g (température de transition vitreuse) légèrement supérieur à celui du bois de feuillu, ce qui peut s'expliquer par une structure plus réticulée dans les bois tendres. La lignine non modifiée dans le bois a le plus bas T_g (65-105°C). Pour les lignines modifiées, le T_g est plus haut : 110-160°C pour la lignine extraite du bois finement broyé et 124-174°C pour la lignine kraft (la lignine trouvée dans la liqueur noire dans les usines de pâte à papier).³⁵

Les lignines isolées ont généralement un poids moléculaire d'environ 2000 à 5000.

La lignine est une des plus abondantes ressources renouvelables. Au niveau mondial, environ 50 millions de tonnes de lignine sont produites annuellement comme résidu des procédés de fabrication du papier.³⁶ La production mondiale de lignosulfonates, qui sont des polymères polyélectrolytes anioniques solubles dans l'eau dérivés de la production de pâte de bois par le procédé sulfite, est estimée à environ un million de tonnes.³⁷ La production mondiale de lignines kraft non utilisée comme combustible est d'environ 0,1 million de tonnes, tandis que celle de lignines sans soufre est très limitée (< 5 kilotonnes). La plus grande partie des résidus de lignine est brûlée pour générer de l'énergie pour les usines de pâte à papier. Cependant, sur la base de ses fonctionnalités et propriétés intéressantes, la lignine offre des possibilités d'applications à plus haute valeur ajoutée dans les produits biobasés. Outre les lignines sulfite et kraft, les lignines sans soufre obtenues à partir de la fabrication alcaline de pâte à partir de fibres autres que le bois et un nouveau procédé de précipitation deviendront commercialement disponibles.³⁶

La lignine a plusieurs applications de relativement basse valeur ajoutée telles que:³⁷

- combustible, fournissant plus d'énergie, une fois brûlée que la cellulose;
- additif dans le ciment, en particulier comme agent retardateur de prise du ciment ;
- additif dans l'asphalte, en particulier à cause de ses caractéristiques anti-oxydantes ;
- liant dans les aliments pour animaux pour plastifier et tenir ensemble la pellet ;
- additif dans les pellets combustibles basées sur la biomasse.³⁸

³¹ J. ZAKZESKI, P.C.A. BRUIJNINCX, A.L. JONGERIUS and B.M. WECKHUYSEN, Chem. Rev. **110**, 3552, 2010 in <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr900354u>

³² P. DOLE and F. BOUXIN, *Macromolecular and Molecular Uses of Lignin*, GFP 2008, Lyon, 2008 in http://gfp2008.ccsd.cnrs.fr/docs/00/32/05/99/PDF/abstract_gfp2008_DOLE.pdf

³³ L. JOUANIN, *Lignines*, Académie d'Agriculture de France, 2010 in <http://www.academie-agriculture.fr/mediatheque/seances/2010/20100217resume2.pdf>

³⁴ T. LIU and Q.W. WANG, *Advanced Materials Research* **113-114**, 606, 2010 in <http://www.scientific.net/AMR.113-116.606>

³⁵ I. BRODIN, *Chemical Properties and Thermal Behaviour of Kraft Lignins*, KTH Royal Institute of Technology, Stockholm, 2009 in <http://kth.diva-portal.org/smash/get/diva2:234300/FULLTEXT01>

³⁶ J. VAN DAM, R. GOSSELINK and E. DE JONG, *Lignin Applications*, Wageningen UR, Agrotechnology & Food Innovations in <http://www.biomassandbioenergy.nl/infoflyers/LigninApplications.pdf>

³⁷ R. GOSSELINK et al. Valorization of Lignin Resulting from Biorefineries, Agrotechnology & Food Sciences Group, Wageningen UR, 2008 in <http://www.rbconference.com/bestanden/downloads/145.pdf>

³⁸ M. KLUKO, *Densified Fuel Pellets*, United States Patent Application 20090205546, 2009 in <http://www.freepatentsonline.com/y2009/0205546.html>

Les applications à haute valeur ajoutée pour la lignine et les lignines modifiées incluent:³⁷

- matière première pour la production de vanilline ;
- composites basés sur la lignine, en particulier les composites à matrice lignine ;³⁹
- liant macromoléculaire pour bois et panneaux durables (panneaux de fibres de moyenne densité, contreplaqué) et produits de design, impliquant la substitution partielle de résines phénol-formaldéhyde par des lignines modifiées en raison de leur similarité structurale, ainsi que le développement de liants renouvelables sans émissions tels que les liants lignine-furane ;⁴⁰
- la lignine dépolymérisée pour des produits chimiques à base aromatique (tels que les phénols), les principales voies pour la dépolymérisation de la lignine étant la dépolymérisation catalysée, suivie de l'hydrodésoxygénation, la pyrolyse et le fractionnement, la liquéfaction catalytique, l'hydrocraquage et la dépolymérisation supercritique ;
- molécule plateforme pour faire des fibres de carbone, des conditionneurs de sol, des fertilisants azotés et des catalyseurs de fabrication de la pâte ;^{35, 41}
- composant de matériaux polymères tels que film d'amidon, polymères conducteurs, polyuréthanes et thermoplastiques ;
- photostabilisation et amélioration de la pâte de bois mécanique riche en lignine et du papier mécanique ;⁴¹
- simultanément stabilisateur UV et colorant ;³⁶
- tensioactif ;³⁶
- matière première pour la production de synthons aromatiques.³²

Comme illustration de la valorisation de la lignine, la société canadienne Lignol produit de la lignine de haute pureté, comme un coproduit de l'éthanol, pour les applications démontrées suivantes :⁴²

- résine phénol-formaldéhyde et substrat adhésif du bois ;
- résines d'encapsulation de cartes de circuit imprimé
- résines de fonderie et composés de moulage ;
- matériaux de friction, liants à résistance dite « en vert », particules organiques ;
- antioxydants dans les caoutchoucs, lubrifiants, additifs dans les aliments pour animaux ;
- tackifiants pour caoutchouc ;
- tensioactifs renouvelables, adjuvants pour béton, agents entraîneurs d'air, superplastifiants ;
- fibre de carbone et production de carbone activé ;
- applications pour aliments pour animaux.

³⁹ N. EISENREICH, EU project: BIOCOMP, *New Classes of Engineering Composites Materials from Renewable Resources*, 2008 in http://www.biocomp.eu.com/uploads/Final_Summary_Report.pdf

⁴⁰ Wageningen UR, 2010 in <http://www.biobasedproducts.wur.nl/UK/projects/fibres>

⁴¹ H. HATAKEYAMA, *Chemical Modification, Properties and Usage of Lignin*, T.Q. HU Ed., 2002 in <http://www.springer.com/life+sciences/forestry/book/978-0-306-46769-1>

⁴² Lignol Energy, *Cellulosic Ethanol – The Sustainable Fuel*, TAPPI, International Conference on Renewable Energy, 2007 in <http://www.tappi.org/content/Events/07renew/07ren06.pdf>

Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

Réf.2010_XX_XX

