

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique  
Université A. M. OULHADJ - Bouira  
Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées  
Département de Génie des Procédés



# Mémoire

Présenté par

**TALBI Zahoua**  
**TAIB El Ouard**

Pour l'obtention du diplôme de

## MASTER

Filière : Génie des Procédés  
Spécialité : Génie d'environnement

***Production de l'éthanol par fermentation***

Devant le jury :

Mr. LOUNICLI.H	Professeur	UAMOB	Président
Mme. EL HANAFLI.N	MCB	UAMOB	Examinatrice
Mr. BOUCELKHA. A	MCB	UAMOB	Examineur
Mme ARBIA. L	MCB	UAMOB	Encadrant

# Remerciements

*Merci à Dieu pour le courage qu'il nous a donné.*

*Le présent travail n'aurait pas vu le jour sans les recommandations, l'assistance et la Bonne volonté de nombreuses personnes.*

*Nous adressons notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à :*

*Toutes les personnes qui ont contribué au succès de la rédaction de ce mémoire.*

*Madame Arbia Leila maitre de conférence à l'université de bouira qui est notre encadreuse , pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion. et qui malgré ses nombreuses responsabilités, n'a cessé de nous guider, de nous encourager et nous soutenir du début jusqu'à la fin de cette recherche ;*

*Monsieur LOUNICI HAKIM qui nous a fait l'insigne honneur de présider le jury de notre soutenance ;*

*Monsieur BOUCELKHA qui a accepté de siéger parmi les membres de jury.*

*Madame EL HANAFI qui a accepté de signer parmi les membres de jury.*

*Nous remercions également toute l'équipe laboratoire de génie des procédés et aussi science de la matière pour avoir assuré la partie pratique, Surtout Madame Dahbia*

*Sans oublier, Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à tous les Masters de Génie d'environnement « promotion 2022 ».*

# Dédicace

*Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au but de rêve et bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire*

*Ya Allah*

*A ma tendre Mère Dadou Hakima : tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

*A mon très cher Père Taib Khelifa : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour. L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.*

*Que dieu les grandes et leur protège.*

*A mes adorable sœurs : Samra et Siham et son mari Tofik.*

*A mes frères : Samir et Walid.*

*A mes grands-parents.*

*A tous mes familles.*

*A mes meilleurs amis*

*« A ma chère binôme : Talbi Zahoua »*

*« El ouard »*

## **DEDICACES**

***A mes parents ( Talbi Nora Et Talbi Ibrahim)***

*Vous m'avez toujours aidés et pensés à mon avenir en me donnant  
tout votre amour, ce fruit de mes efforts est dédié pour vous,*

***À ma binôme (el Ouard )***

*Qui est participé a la réalisation de ce mémoire .*

***A ma tante (Djamila)***

*Qui m'a toujours aidée moralement, et qui a fait beaucoup de chose  
Pour moi,*

***A mon amie (Heda)***

*Qui est toujours présent à tout moment et qui m'a aidé beaucoup à  
la  
Réalisation de ce mémoire,*

***A mon voisin (da Hocine)***

*Mon cher voisin, en témoignage de l'attachement, de l'amour et de  
l'affection que je*

*Porte pour vous je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de  
bonheur,*

*De santé et de réussite et merci pour ton ta précieuse aide*

***A mon encadreuse et aux membres de jury***

***A la grande famille,***

***A mes amies,***

***Et A tous,***

*Merci du fond du cœur !*

## *Liste des tableaux*

### **Chapitre I**

**Tableau I.1 :** Composition de la figue de barbarie *Opuntia ficus-indica*.....05

**Tableau I.2 :** Comparaison de la composition des cladodes avec d'autres aliments.....06

### **Chapitre III**

**Tableau III.1 :** La liste des bactéries productrices d'éthanol.....19

### **Chapitre IV**

**Tableau IV.1:** Matériel et Produits utilisés pour l'élaboration de procédé de la production de bioéthanol.....22

### **Chapitre V**

**Tableau V.1 :** Propriétés physicochimique des cladodes d'*Opuntia ficus- indica*.....34

**Tableau V.2 :** Propriétés phystochimique des cladodes d'*Opuntia ficus- indica*.....35

**Tableau V.3 :** Paramètres cinétiques de la fermentation n°1.....38

**Tableau V.4 :** Paramètres cinétiques de la fermentation n°2.....40

**Tableau V.5 :** Paramètres cinétiques de la fermentation n°3.....41

**Tableau V.6 :** Paramètres cinétiques de la fermentation n°4.....43

**Tableau V.7 :** Paramètres cinétiques de la fermentation n°5.....45

**Tableau V.8 :** Les paramètres cinétiques de la levure obtenu à partir des différents milieux de fermentation.....46

**Tableau V.9 :** Tableau de corrélation obtenu entre les deux variables étudiés (le volume de d'éthanol en fonction de la masse de la poudre d'OFI).....48

## Liste des figures

### Chapitre I

**Figure I.1** : Photo de la plante *Opuntia ficus-indica*.....03

**Figure I.2** : Photo de fruit d'*Opuntia ficus-indica*.....05

### Chapitre IV

**Figure IV.1** : Photo de raquettes d'*Opuntia ficus-indica*.....23

**Figure IV.2** : Photo de la préparation du jus d'*Opuntia ficus-indica*.....24

**Figure IV.3** : Dispositif du procédé de la fermentation éthanoïque.....30

**Figure IV.4** : Photo du dispositif de la fermentation alcoolique.....33

### Chapitre V

**Figure V.1** : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation.....36

**Figure V.2** : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation.....37

**Figure V.3** : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation.....39

**Figure V.4** : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation.....39

**Figure V.5** : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation.....41

**Figure V.6** : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation.....41

**Figure V.7** : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation.....42

**Figure V.8** : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation.....43

**Figure V.9** : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation.....44

**Figure V.10** : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation.....44

**Figure V.11** : Les volumes d'éthanol obtenus selon la concentration de jus d'OFI.....47

**Figure V.12** : Corrélation linéaire entre les volumes d'éthanol obtenus et les quantités de jus d'OFI ajoutées dans chaque milieu de fermentation.....49

## *Liste des sigles et abréviations*

**OFI:** *Opuntia ficus indica*

**CAM:** Crassulacean Acid Metabolism

**UF:** Unite Fourragère

**ETBE:** Éthyle Tertio Butyle Éther

**MTBE:** Méthyl Tertio Butyle Éther

**CE:** Commission Européenne

**CaOH :** Hydroxyde De Calcium

**H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:** Acid Carbonique

**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>:** Bicarbonate

**CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>:** Carbonate

**Co<sup>2+</sup>:** Cobalt (II)

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:** Acide Sulfurique

**DNS:** Acide Dinitrosalicylique

**U<sub>x exp</sub>:** Taux De Croissance

**t<sub>D</sub>:** Temps De Doublement

**P<sub>vhg</sub>:** Productivité Volumiques Horaire Globale

**Y<sub>x,s</sub>:** Rendement de la biomasse par rapport au substrat

## *Sommaire*

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

### **Chapitre I :**

#### **Généralités sur la plante *Opuntia Ficus-Indica***

Introduction.....	03
I.Classification de plante OFI.....	03
II. Importance de la plante OFI.....	04
III. D'efférentes esp'ces de la plante OFI .....	04
IV. Utilisation de la plante OFI .....	04
IV.1. Utilisation de fruits.....	04
IV.2. Utilisation de la raquette .....	06
IV.2.1. Production Fourrag'ere.....	06
IV.2.2. Production mara'ch'ere.....	06
IV.2.3. Utilisation m'edicinales.....	07
IV.3. Utilisation des fleurs.....	07

### **Chapitre II :**

#### **Généralités sur le bioéthanol**

I.Intoduction.....	08
I.1. Les d'efférents types de biocarburants.....	08
I.2. Les d'efférentes g'énérations de biocarburants.....	08
I.2.1. Les biocarburants de premi'ere g'énération.....	08
I.2.2. Les biocarburants de deuxi'eme g'énération.....	09
I.2.3. Les biocarburants de troisi'eme g'énération.....	09
I.3. Les int'ér'ets des biocarburants.....	10
II.Introduction.....	10
II.1. Bioéthanol.....	10
II.2. Composition de bioéthanol.....	10
II.3. propri'etés physico-chimique.....	11
II.3.1. Propri'été Physique.....	11
II.3.2. Propri'été Chimique .....	11
II.4. Utilisation du bioéthanol.....	12
II.5. Les étapes nécessaires effectuées de bioéthanol lignocellulose pour la production de bioéthanol	
II.5.1. Pr'traitement.....	12
II.5.2. Saccharification.....	13
II.5.3. D'sintoxication.....	13

II.5.4. Sélection de l'organisme.....	13
II.5.5. Composition et fonctionnement de milieux culture.....	13
II.5.6. Récupération de l'éthanol.....	14

### Chapitre III :

### **Fermentation**

Introduction.....	15
I.Les différents type de fermentation.....	15
II. Mode de conduites des fermentation.....	15
II.1. Fermentation Batch.....	15
II.2. Fermentation Fed-Batch.....	16
II.3. Fermentation en mode continu.....	16
II.4. Bioréacteur à recyclage cellulaire.....	16
III. Facteur influençant la fermentation alcoolique.....	16
III.1. Concentration en substrat carboné.....	16
III.2. Teneur en oxygène.....	17
III.3. Température.....	17
III.4. pH.....	17
III.5. Ethanol.....	17
III.6. Gaz carbonique.....	18
III.7. Agitation.....	18
III.8. L'activité de l'eau.....	18
III.9. Taux d'ensemencement.....	18
IV. Les micro-organismes utilisés dans la production de bioéthanol.....	18
IV.1. La levure.....	19
V. propriété de la levure.....	19
V.1. Caractéristique microbiologique des levures.....	19
V.1.1. Habitat.....	20
V.1.2. Morphologie.....	20
V.1.3.Cytologie.....	20
V.1.4. Reproduction.....	20
VI. Les besoins nutritionnels de la levure.....	20
VI.1. Source de carbone.....	20
VI.2. Source d'azote.....	21
VI.3. Les facteurs de croissances.....	21
VII. Souches microbiennes pour la production des quelques biocarburants.....	21
VIII. Récupération de produit de fermentation.....	21

VIII.1. Distillation et purification.....	21
---	----

**Chapitre IV :**

**Matériel et méthodes**

Introduction.....	22
I. Matériel.....	22
I.1. Matériel Biologique « <i>Saccharomyce cerevisiae</i> ».....	23
I.1.1. Matériel végétale.....	23
I.1.1.1. Cactus « OFI ».....	23
II. La processus de la production de bioéthanol.....	23
II.1. Préparation du substrat avant la fermentation.....	23
II.2. Les analyses de la plante utilisé comme un substrat.....	24
II.2.1. Analyse physique d' <i>Opuntia Ficus Indica</i> .....	24
II.2.1.1. Aspect des raquettes ( cladodes ).....	24
II.2.2. Analyse chimique des raquettes d' <i>Opuntia Ficus Indica</i> .....	24
II.2.2.1. Détermination de pH.....	24
II.2.2.2. Solubilité.....	25
II.2.2.3. La perte à la dessiccation.....	25
II.2.2.4. Détermination de la teneur en eau.....	25
II.2.2.5. Détermination de la teneur en matière sèche.....	26
II.2.2.6. Détermination de la teneur en cendre totaux.....	26
II.2.2.7. Détermination de l'indice de gonflement.....	27
II.2.3. Les analyses photochimiques.....	27
II.2.3.1. Recherche des polyphénols totaux.....	27
II.2.3.1.1. Tanins.....	28
II.2.3.1.2. Tanins hydrolysables.....	28
II.2.3.1.3. Les flavonoïdes.....	29
II.2.3.1.4. Anthocynes.....	29
II.3. Hydrolyse par la chaleur.....	30
II.4. Préparation de l'inoculum.....	30
II.5. La fermentation éthanoïque.....	30
II.5.1. Suivi de la fermentation.....	31
II.5.2. Mesure de pH.....	31
II.5.3. Teneur des sucres réducteur par la méthode de DNS.....	31
II.5.4. Mesure de la biomasse.....	32
II.5.6. Mesure de la pression de la CO <sub>2</sub> .....	32
II.6. Distillation alcoolique.....	33

## **Chapitre V :**

### **Résultats et discussion**

Introduction.....	34
I.Caractérisation physicochimique du matériel végétal utilisé comme matière première.....	34
II. Etude phytochimique de la poudre d'OFI.....	34
III. Fermentations alcooliques.....	35
III.1. Fermentation sur le milieu de culture n°1.....	36
III.1.1. Paramètres cinétiques.....	38
III.2. Fermentation sur le milieu de culture n°2.....	38
III.3. Fermentation sur le milieu de culture n°3.....	40
III.4. Fermentation sur le milieu de culture n°4.....	42
III.5. Fermentation sur le milieu de culture n°5.....	43
IV. Comparaison entre les différentes fermentations réalisées.....	46
V. Effet de la plante d'OFI sur la production d'éthanol.....	47
Conclusion.....	50
Références bibliographiques	

## Résumé

L'objectif de cette étude est la valorisation énergétique de la plante *Opuntia Ficus Indica* pour produire du bioéthanol par la bioconversion anaérobie en présence de la levure *Saccharomyce scerevisiae*. La production de bioéthanol de deuxième génération est réalisée en cinq étapes principales : Préparation de substrat avant la fermentation, hydrolyse par chaleur, préparation de l'inoculum, la caractérisation du substrat utilisé puis la fermentation éthanoïque et la distillation alcoolique. Dans cette recherche, nous avons varié la masse du cactus dans le milieu de fermentation pour montrer leur importance et leur influence sur la production de bioéthanol. Au cours de ces fermentations nous avons suivi des différents paramètres tels que: le pH, la concentration des sucres réducteurs, la croissance cellulaire, le degré alcoolique et les volumes de bioéthanol. Les résultats ont montré que la poudre d'OFI a permis d'améliorer le métabolisme cellulaire en améliorant le rendement du bioéthanol obtenu. Aussi, nous avons optimisé la quantité de cette poudre ajoutée qui est de 300g de cactus par 1.5ml d'eau.

**Mots clés:** *Opuntia Ficus Indica*, bioéthanol, *Saccharomyce scerevisiae*, fermentation, Facteur de croissance.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو استعادة الطاقة من نبات التين الشوكي لإنتاج الإيثانول الحيوي عن طريق التحويل الحيوي اللاهوائي في وجود الخميرة. يتم إنتاج الجيل الثاني من الإيثانول الحيوي في خمس مراحل رئيسية: تحضير الركيزة قبل التخمير، التحلل المائي بالحرارة، تحضير اللقاح، توصيف الركيزة المستخدمة ثم التخمير و التقطير الكحولي. في هذا البحث قمنا بتغيير كتلة الصبار في وسط التخمير لإظهار أهميتها وتأثيرها على إنتاج البيو إيثانول خلال عمليات التخمير هذه اتبعنا معايير مختلفة مثل: الأس الهيدروجيني، تركيز السكريات المخزنة، نمو الخلايا، محتوى الكحول و أحجام الإيثانول الحيوي. أظهرت النتائج أن مسحوق التين الشوكي يحسن التمثيل الغذائي للخلايا عن طريق تحسين إنتاج الإيثانول الحيوي الذي تم الحصول عليه. أيضا قمنا بتحديد الكمية الأمثل لهذا المسحوق المضاف و هي 300 جرام من الصبار لكل 15 مل من الماء.

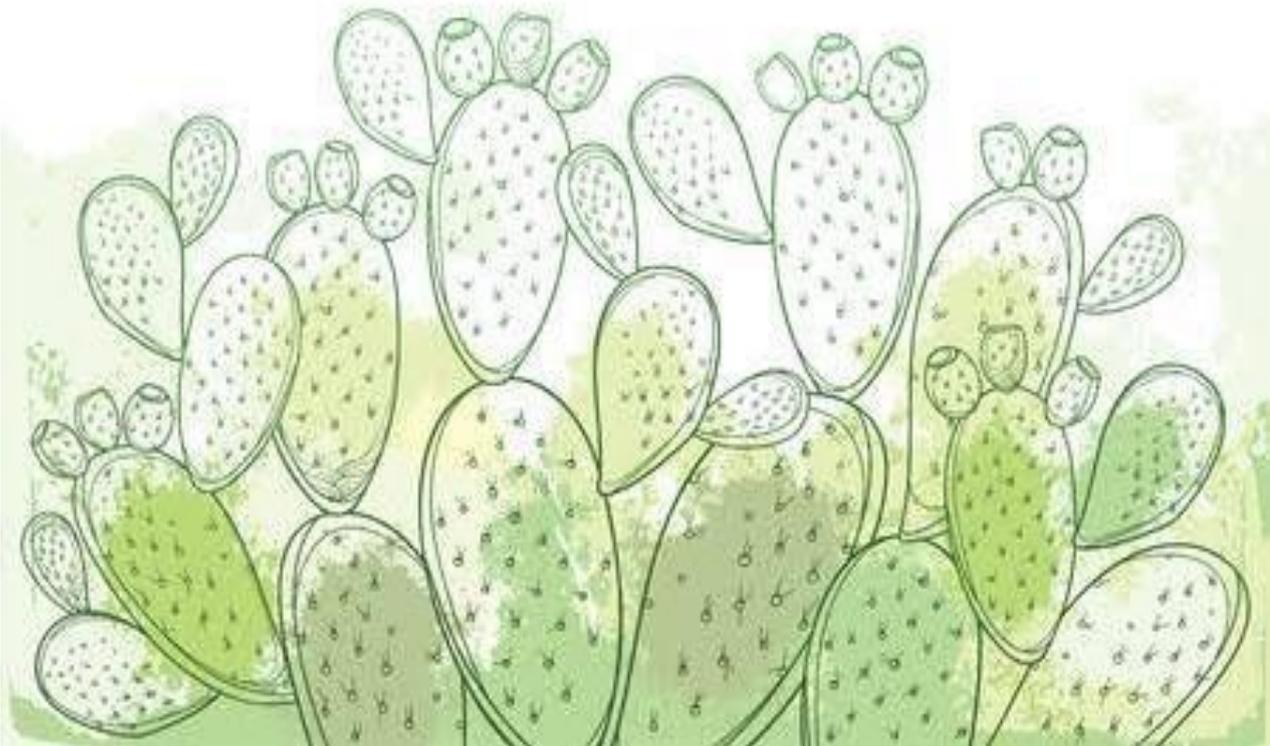
**الكلمات المفتاحية:** التين الشوكي، الإيثانول الحيوي، الخميرة، التخمير، عامل النمو.

## Summary

The objective of this study is the energy recovery of the *Opuntia Ficus Indica* plant to produce bioethanol through anaerobic bioconversion in the presence of the yeast *Saccharomyce scerevisiae*. The production of second-generation bioethanol is carried out in five main stages: Substrate preparation before fermentation, heat hydrolysis, inoculum preparation, characterization of the substrate used then ethanoic fermentation and alcoholic distillation. In this research, we varied the mass of the cactus in the fermentation medium to show their importance and influence on bioethanol production. During these fermentations we followed different parameters such as: pH, concentration of reducing sugars, cell growth, alcoholic degree and volumes of bioethanol. The results showed that *OFI* powder improved cellular metabolism by improving the yield of the bioethanol obtained. Also, we have optimized the amount of this added powder which is 300g of cacti per 1.5ml of water.

**Keywords:** *Opuntia Ficus Indica*, bioethanol, *Saccharomyce scerevisiae*, fermentation, Growth factor.

# *INTRODUCTION*



# Introduction

---

## Introduction

L'augmentation rapide de l'industrialisation et la surpopulation exigent de trouver d'autres sources d'énergies, moins polluantes, pour minimiser les effets du réchauffement climatique (Althurietal, 2018). De ce fait, l'éthanol produit à partir des matières lignocellulosiques est l'une des alternatives les plus appropriées pour remplacer des combustibles fossiles parce qu'elles fournissent de l'énergie renouvelable et consomment moins de carbone que l'essence (Subramanian, 2018).

Le bioéthanol de deuxième génération est obtenu par fermentation des cultures non alimentaires telles que les bio déchets et biomasse lignocellulosique. Dans ce travail nous avons utilisé la plante *Opuntia ficus-indica* comme une biomasse.

*Opuntia ficus indica* est une xérophyte qui produit des fruits comestibles ainsi que du fourrage pour le bétail. Ses raquettes sont riches en eau et en éléments riches en nutriments. Il peut être considéré comme une espèce appropriée pour l'agriculture à long terme dans les régions arides et semi-arides, grâce à sa résistance à la sécheresse et à sa contribution à la nutrition humaine et animale (Arba, 2009). Elle a d'abord été introduite dans la région méditerranéenne vers la fin du 15<sup>ème</sup> siècle, puis en Afrique du Nord à la fin du 16<sup>ème</sup> (Arba, 2009).

La production de biocarburant à partir de la biomasse *lignocellulosique* s'effectue dans plusieurs étapes : un prétraitement nécessaire pour éliminer la lignine ou l'hémicellulose afin de libérer la cellulose, une dépolymérisation des polymères glucidiques pour obtenir des sucres libres par l'action de la cellulase. Ensuite, une fermentation des sucres hexose et/ou pentose pour produire de l'éthanol, enfin, une distillation pour récupérer l'éthanol pur (Canilha et al, 2012).

Le but de ce travail est la valorisation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* et la production de bioéthanol. Il en globe deux parties contenant 05 chapitres :

- ✚ **La première partie** de ce mémoire présente une synthèse bibliographique divisée en trois chapitres:
  - ✓ Le premier chapitre rapporte des données générales sur *Opuntia ficus-indica*, Il présente également la classification, l'utilisation et l'importance de cette plante )
  - ✓ Le deuxième chapitre porte sur les biocarburants en générale, ce chapitre présent les différents types des biocarburants, leurs voies de production et aussi sur le bioéthanol et leur utilisation dans divers domaines.

## Introduction

---

✓ Le troisième chapitre se focalise sur la fermentation alcoolique qui permet de transformer les sucres simples en bioéthanol, et aussi sur le microorganisme utilisé (la levure).

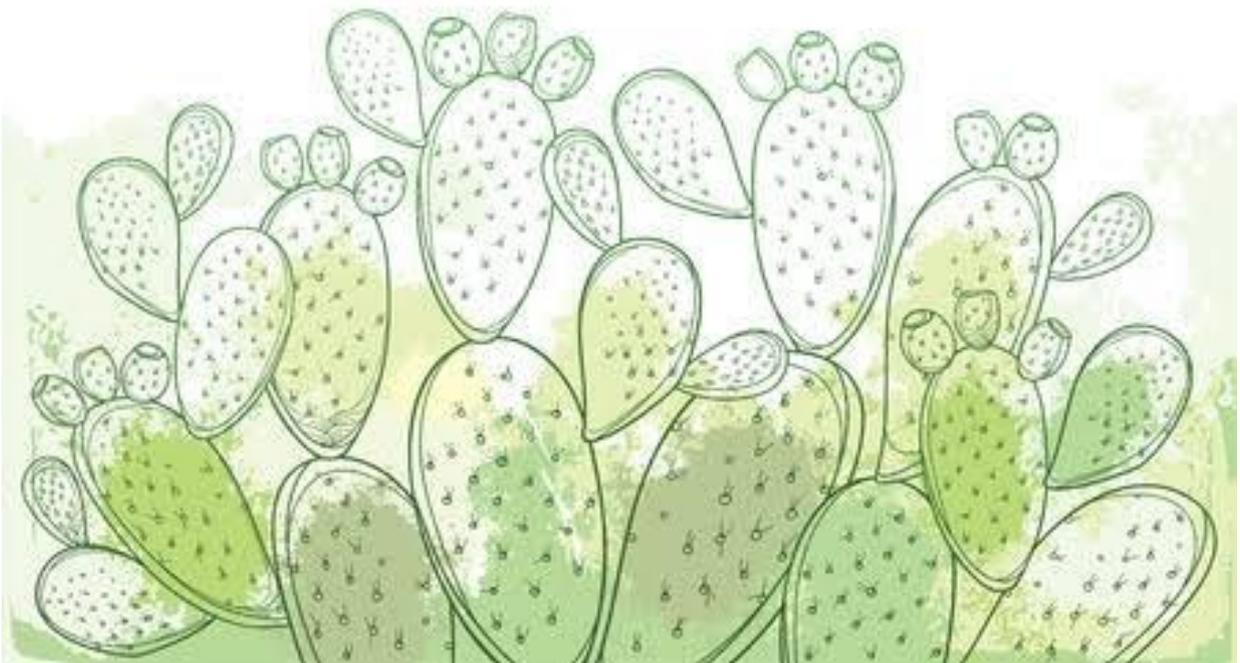
✚ **La deuxième partie** comporte deux chapitres :

✓ Matériel et méthodes expérimentales utilisés dans le présent projet.

✓ Cinquième chapitre qui va contenir l'ensemble des résultats obtenus, des courbes et des tableaux et leurs interprétations et discussions.

Ce travail de mémoire est clôturé par une conclusion générale et des perspectives pour un travail ultérieur

*CHAPITRE I :*  
*GENERALITES SUR LA PLANTE OPUNTIA*  
*FICUS INDICA*



## Introduction

*Opuntia ficus-indica* (OFI) ou Figuier de Barbarie, est une plante succulente de type CAM (Crassulacean Acid Metabolism). Elle pousse dans des conditions semi-arides et développe des adaptations physiologiques et morphologiques pour résister à la sécheresse, aux vents forts, aux tempêtes de sable et au sirocco (Sadok et al, 2009). C'est un arbuste commun en Algérie, elle peut atteindre 2 à 3 mètres de haut et occupe une place importante dans le paysage rural, avec des plantations plus ou moins régulières en cerclant les villages, limitant la taille des parcelles agricoles ou de pâturage (Adjeroud et al, 2018).

*Opuntia ficus-indica* est une plante médicinale connue pour ses nombreux avantages pour la santé et attirant l'attention dans un large éventail d'applications, y compris l'agriculture, la transformation des aliments et le traitement des eaux usées (Adjeroud et al, 2018).

## I. Classification de la plante

**Classe:** Magnoliopista

**Ordre:** Cayophyllide

**Famille:** Cactaceae

**Genre:** *Opuntia*

**Espèce:** *ficus-indica*



*Figure I.1: Photo de la plante Opuntia ficus-indica*

## II. Importance de la plante *O. ficus-indica*

Le fruit du figuier de barbarie est la figue. C'est un fruit délicieux et nutritif. Il est riche en vitamine C et contient de l'albumine, du sucre insoluble et du mucilage (un composant végétal visqueux qui peut coaguler et geler lorsqu'il est exposé à l'alcool) (Sadoket *al*, 2009).

Le jus de cladodes d'*Opuntia ficus-indica* extrait par pression a montré une composition intéressante en sucres, polyphénols et acide ascorbique qui se diffère selon le stade de la croissance. Il apparaît que les organes les plus jeunes ayant moins de 170 g sont les plus riches en éléments nutritifs. La richesse des cladodes d'*Opuntia* en minéraux tels que : magnésium, potassium, calcium et les fibres peut constituer un apport qualitatif sur le plan nutritionnel. La chlorophylle présente également un apport non négligeable, son rôle vis à vis des tumeurs a été rapporté par de nombreux chercheurs (Sadok *et al*, 2009).

L'addition du jus des cladodes dans le yaourt accélère la cinétique de fermentation, réduit la durée de fabrication et peut donc s'avérer d'un gain économique non négligeable. Parmi les avantages, l'acidité du yaourt aurait un effet réduit sur les muqueuses gastriques grâce à la protection apportée par le mucilage. (Sadok *et al*, 2009).

## III. Différentes espèces de la plante *O. ficus-indica*

Le genre *Opuntia* est le plus important et le plus répandu de la famille des cactacées. Il comprend environ 300 espèces réparties en quatre sous-genres:

- ✓ **brasiliopuntia** : tronc non articles cylindriques et aplatis,
- ✓ **cylindropuntia** : articles cylindriques portant des épines,
- ✓ **platyopuntia** : articles aplatis en raquettes, feuilles petites et caduques, épines nongainées
- ✓ ***Opuntia ficus-indica*** : plus connue sous le nom de figuier de barbarie, appartient au dernier sous genre de l'*Opuntia* (Arba, 2009).

## IV. Utilisation de la plante *OFI*

### IV.1. Utilisation du fruit

La capacité de la plante *OFI* s'adapter aux climats arides et semi-arides est un avantage écologique et socioéconomique indéniable. Elle constitue une protection contre la désertification et l'érosion des sols (Habibi, 2004). On peut préparer de la confiture et de boissons à partir de ce fruit ou bien le consommer cru.

Il est très nutritif et il peut être utilisé comme complément alimentaire pendant les saisons de transition de l'été et de l'automne, ainsi que pendant les années de **sécheresse (Habibi, 2004)**. Les fruits du figuier de barbarie sont gros (30 à 150 g), bacciformes ou piriformes (49 cm), verdâtres et deviennent jaunes à rouges à maturité, avec une pulpe molle juteuse, sucrée, et un mucilage avec de nombreux petits grains. Leur pH est un peu élevé (5,6) par rapport aux autres fruits **(Habibi, 2004)**.



**Figure I.2: Photo du fruit d'*O. ficus-indica***

Divers pays comme l'Italie, Mexique, Chili... exploitent ce fruit pour le transformer en jus, miel, boissons alcoolisées, confiture et colorant alimentaire à l'aide de différentes techniques **(Habibi, 2004 )**.

**Tableau I.1: Composition de la figue de barbarie *Opuntia ficus-indica* ( Anonyme, 1993).**

Constituants	Fruit(%)	Pulpe et graine(%)	Pulpe sans graine(%)
Eau	80.0	84.5	83.6
Protéines	1.0	1.3	0.8
Lipides totaux	0.7	1.3	0.3
Glucides Disponibles	14.8	8.0	10.8
Fibres brutes	2.3	4.4	3.6

## IV.2. Utilisation des raquettes

### IV.2.1. Production fourragère

*O. ficus-indica* est considérée comme l'espèce la plus productive dans les zones arides. Selon les régions et son stade de croissance, sa production de matière sèche varie de 12 à 16 tonnes par hectare. Elle peut donner jusqu'à 30 tonnes par hectare sur les terres irriguées. Sa productivité est de 1,37 kg/m<sup>2</sup> /an contre 0,71 kg/m<sup>2</sup> /an en moyenne pour les autres espèces (Benkaddoure, 2011). Une fertilisation phosphorique et azotée améliore la valeur nutritionnelle et la productivité de la biomasse (Benkaddoure, 2011). Elles renferment un rapport calcium/phosphore élevé et est riche en glucides, en eau et en vitamines. Donc, la valeur fourragère varie de 0,06 à 0,08 UF/kg de raquettes (UF (Unité Fourragère)=1820 Kcal) (Benkaddoure, 2011).

*Tableau I.2: Comparaison de la composition des cladodes avec d'autres aliments (Poupon, 1975).*

Nature du fourrage	Matière sèche (%)	Matière Azotée (%)	Hydrate de Carbone (%)	Matière Grasse (%)
Foin de Luzerne	91.4	10.6	39.0	0.9
Atiplex	23.3	2.8	5.9	0.1
Maïs ensilé	26.3	1.1	15.0	0.7
Pulpes de betterave Sucrière	9.4	0.2	6.4	0.1
Cladodes de l'Opuntia	10.4	0.6	5.8	0.1

### IV.2.2. Production maraîchère

Les jeunes pousses d'*Opuntia*, appelées "Nopalitos" sont consommées comme légume au Mexique et dans le sud des Etats Unis. Elles sont riches en vitamine C et en Calcium et leur valeur nutritive est proche de celle de la laitue et des épinards (Benkaddoure, 2011).

#### IV.2.3. Utilisations médicinales

La médecine traditionnelle a largement utilisé le cactus grâce à sa richesse en oligoéléments naturels qui peuvent améliorer la santé humaine et la nutrition (Adli et al, 2017). Les extraits de cactus ont montré des activités anti-tumorales et antioxydantes (Smida et al, 2017). L'effet hypoglycémiant de « Nopalitos » est utilisé dans le traitement du diabète non insulino-dépendant en Australie et en Afrique du Sud. Le mucilage isolé des raquettes aide à abaisser les niveaux de cholestérol total dans le sang.

Cette plante est dotée de propriétés anti-inflammatoires, hypoglycémiantes, cicatrisantes, antioxydantes, anticancéreuse, neuroprotectrice, hépatoprotective, antiproliférative, analgésique, antivirale, etc. (Petruk et al, 2017).

La plupart des parties des cactus ont été utilisées comme médicaments, et elles ont été transformées en formes de gélules, de boissons, de pilules ou de poudres (Abdel-Hameed et al, 2014).

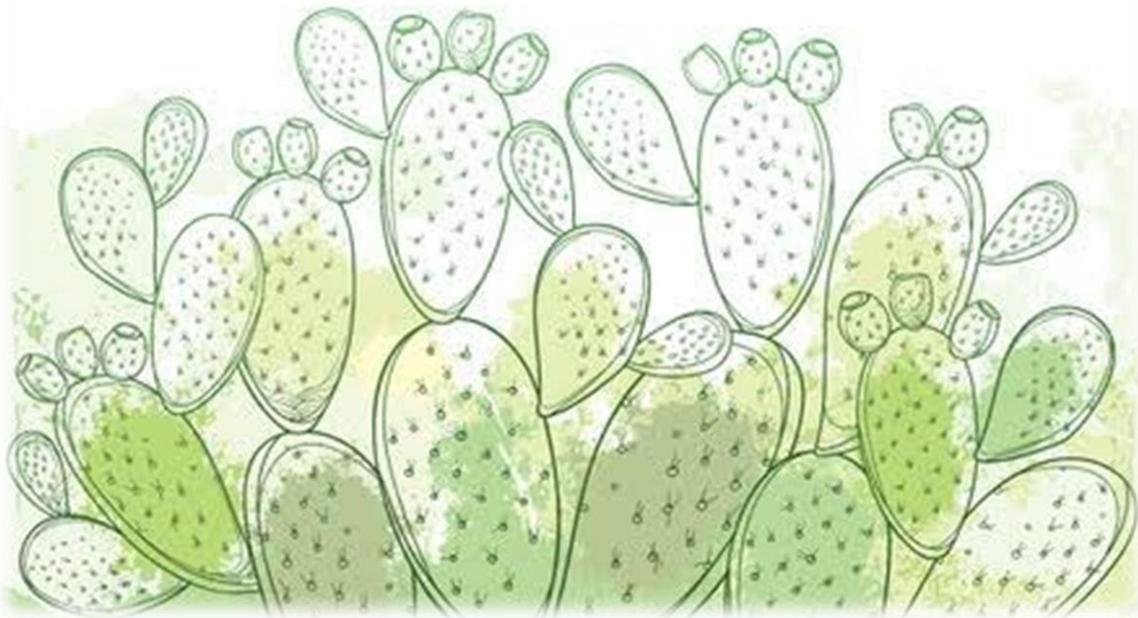
Les sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* représentent une bonne source d'antioxydants naturels avec des applications possibles dans les industries alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques. Ces activités sont dues à la présence de composés phénoliques (Aguirre et al, 2013).

De plus, ces industries utilisent les femelles des cochenilles *Dactylopius coccus costalis* ou *Dactylopius opuntiae cockerelli*, isolées à partir des raquettes de l'OFI, pour fabriquer un colorant rouge appelé carmine ou acide carminique (E 120) (Benkaddoure, 2011).

#### IV.3. Utilisation des fleurs

Les fleurs sont également utilisées à des fins médicinales. En fait, les capsules de corolle de fleurs séchées sont utilisées comme traitement du dysfonctionnement de la prostate (hypertrophie bénigne de la prostate) ainsi que comme régulateur diurétique. En Sicile, un thé à base de fleurs de *Opuntia ficus-indica* est utilisé pour traiter les douleurs menstruelles (Habibi, 2004).

***CHAPITRE II :***  
***GENERALITES SUR LE BIOETHANOL***



**I. Introduction**

Chaque année, les ressources en énergie fossile diminuent dans le monde et la recherche des substituant s'est avérée nécessaire (**Anglani, 1998**).

Le développement de la population, l'urbanisation et les changements climatiques conduisent à l'épuisement des réserves de combustibles fossiles. Ce qui a entraîné la nécessité de trouver d'autres sources de carburants (**Kumar et Gaurav, 2017**).

Les biocarburants sont des carburants dérivés de produits biologiques qui peuvent être utilisés seuls comme carburant de transport ou dans le cadre d'un mélange de carburants. Ils peuvent apporter une solution à la crise actuelle des carburants (**Kumar et Gaurav, 2017**). Il y a de nombreuses cultures disponibles pour produire de l'énergie et pas seulement les aliments (**Anglani, 1998**).

Parmi les systèmes d'énergie renouvelable, la bioénergie et les biocarburants ont la caractéristique unique de pouvoir aider à maintenir l'environnement et l'écologie de la terre que les autres systèmes d'énergie renouvelable n'ont aucune incidence sur l'écologie de la terre (**Subramanian, 2018**).

**I.1. Les différents types de biocarburants**

le bioéthanol, le biodiesel, le biogaz, le bio-méthanol, le bio-diméthyléther, le bio-éthyle-tertio-butyle-éther (bio-ETBE), le bio-Méthyl-tertio-butyle-éther(bio-MTBE), les biocarburants synthétique , le bio-hydrogène et les huiles végétales ures sont Les dix biocarburants cités par la commission Européenne (directive 2003/30/CE). Les deux principaux biocarburants candidats prêts à un développement industriel sont l'éthanol et l'ester méthylique d'huile végétale ou le biodiesel (**Perrin et Scharff, 2005**).

**I.2. Les différentes générations des biocarburants**

Les différentes générations des biocarburants se diffèrent par leurs voies de production et leur utilisation dans divers domaines, On distingue trois générations de biocarburants :

**I.2.1. Les biocarburants de première génération**

Ils sont principalement de deux types :

- **le bioéthanol** : c'est à partir de canne à sucre, de céréales et de betterave sucrière. Il est utilisé dans les moteurs essences ;
- **le biodiesel** : il est à partir de matières premières qui peuvent être utilisées dans une chaîne alimentaire animale ou humaine, leurs différentes sources les acides gras, les huiles de soja, de colza, de palme et d'autres huiles végétales. Il est utilisé dans les moteurs diesel.

Les biocarburants de première génération sont en concurrence directe avec la chaîne alimentaire. Aujourd'hui, seule cette génération est produite à l'échelle industrielle (**Oucif, 2017**).

### **I.2.2. Les biocarburants de deuxième génération**

Aujourd'hui, La technologie cherche, à utiliser les matières cellulosiques par exemple le bois, les feuilles et les tiges des plantes ou celles issues de déchets. Ces matières de biomasse ligno-cellulosique proviennent de composants ligneux ou à base de carbone qui ne sont pas directement utilisés dans la production alimentaire. Ces caractéristiques présentent un avantage de disponibilité supérieure et de non concurrence alimentaire par rapport à la première génération de biocarburants.

On qualifie cette technologie qui permet de produire du bioéthanol dit de deuxième génération, du biodiesel, du biohydrogène ou du biogaz sans l'utilisation des matières premières de la chaîne alimentaire, mais elle n'est pas encore déployée au stade industriel mais des perspectives de mise en application à moyen terme se dessinent. Leur production à grande échelle est prévue à l'horizon 2020-2030 (**Boulal, 2017**).

### **I.2.3. Les biocarburants de troisième génération**

C'est l'utilisation des microorganismes tels que les microalgues. Ils peuvent accumuler des acides gras permettant d'envisager des rendements à l'hectare supérieurs d'un facteur 30 aux espèces oléagineuses terrestres. Avec ces acides gras, il est possible de produire du biodiesel. Certaines espèces de microalgues contiennent des sucres qui peuvent être fermentées en bioéthanol. Et aussi, les microalgues peuvent être utilisés pour produire du biogaz et du biohydrogène (**Boulal, 2017**).

**I.3. Les intérêts des biocarburants**

- Limiter les émissions de CO<sub>2</sub> liées au transport en utilisant des ressources renouvelables. (Utilisation d'une partie du CO<sub>2</sub> émis pour la croissance des plantes) ;
- Accroître l'indépendance énergétique de pays non producteurs de pétrole comme la France ;
  - ✓ L'utilisation de biodiesel réduit une partie des importations nécessaires pour alimenter le parc des véhicules diesel.
- Développer de nouveaux débouchés à l'agriculture
  - ✓ 1992 (PAC) : Jachère obligatoire pour lutter contre surproduction de céréales et oléagineux.
  - ✓ 2008 : Suppression des jachères obligatoires.
  - ✓ Alternative à la jachère jusqu'en 2009, les biocarburants utilisent actuellement en France environ 6 % de la surface agricole utile. (**Hudebine 2014**).

**II. Introduction****II.1. Bioéthanol**

Les progrès des industries du bioéthanol pourraient contribuer à réduire la dépendance aux combustibles fossiles et réchauffement climatique modéré. Le bioéthanol dérivé de la lignocellulose peut être une technologie bienvenue en raison de sa durabilité, de son coût inférieur et de sa disponibilité nettement plus grande des réserves de matières premières par rapport à l'éthanol à base d'amidon (**Wyman, 1999 ; Dalgaard et al, 2006**).

Parmi les divers types de biomasse lignocellulosique, on observe une tige de maïs comme l'une des matières premières encourageantes pour la production de bioéthanol en raison de sa teneur élevée en cellulose et en hémicellulose (**Chen et al, 2007**).

**II.2. Composition de bioéthanol**

Le bioéthanol contient 35% d'oxygène, ce qui permet une réduction d'émission de matière particulaire. L'utilisation de bioéthanol réduit de 7% la quantité de CO<sub>2</sub> émise par rapport à l'essence. Son indice d'octane est très élevé. Ce qui lui confère une résistance élevée à la détonation provoquée par un allumage prématuré assurant une haute performance du moteur,

Notamment sur le plan de la puissance développée. L'éthanol joue à ce titre le rôle des dérivés du plomb autrefois présents dans l'essence (Sadi, 2012).

### **II.3. Propriétés physico-chimiques**

#### **II.3.1. Propriétés physiques**

- L'éthanol est un liquide mobile, incolore, volatil, d'odeur plutôt agréable, décelable dès 84 ppm.
- L'éthanol est miscible à l'eau, Par contre il y a expansion du liquide lorsque l'éthanol est mélangé à de l'essence.
- L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels. C'est un bon solvant des graisses et il dissout de nombreuses matières plastiques.
- Le titre d'un mélange eau/éthanol est le rapport entre le volume d'alcool absolu contenu dans ce mélange et le volume de celui-ci à 15 °C ; il est exprimé en % en volume.
- L'éthanol peut être commercialisé sous forme anhydre (éthanol à 100 % en volume appelé aussi alcool absolu) ou à différentes concentrations dans l'eau, principalement à 95 % et, pour des usages antiseptiques, à 70 %.
- Pour les usages autres qu'alimentaires, des dénaturants sont ajoutés. L'éthanol dénaturé, que l'on trouve également dans le commerce sous le nom d'alcool à brûler, est de l'éthanol dans lequel on a dissous divers produits pour le rendre impropre à la consommation.
- En France, l'alcool dénaturé selon le procédé général, doit contenir 3,5 % de méthylène-Régie (mélange complexe qui donne un goût et une odeur désagréables, obtenu par carbonisation du bois et contenant environ 65 % de méthanol, des cétones et des impuretés pyrogènes) et 1 % de 2-propanol.

Des procédés spéciaux de dénaturation peuvent être autorisés pour des usages particuliers (INRS).

#### **II.3.2. Propriétés chimiques**

Dans les conditions normales, l'éthanol est un produit stable. Il possède les propriétés générales des alcools primaires (réactions d'oxydation, déshydrogénation, déshydratation et estérification). Il peut réagir vivement avec les oxydants puissants : acide nitrique, acide perchlorique, perchlorates, peroxydes, permanganates, trioxyde de chrome...

La réaction avec les métaux alcalins conduit à un dégagement d'hydrogène ; elle peut être

brutale sauf si elle est réalisée en l'absence d'air pour éviter la formation de mélanges explosifs air-hydrogène., la plupart des autres métaux usuels étant insensibles à l'éthanol (INRS).

#### **II.4. Utilisation du bioéthanol**

- Solvant utilisé dans l'industrie des peintures, vernis, encres, matières plastiques, adhésifs, explosifs, parfums, cosmétiques, l'industrie pharmaceutique...
- Matière première pour la production de nombreux composés : acide acétique, acrylate d'éthyle, acétate d'éthyle, éthers de glycol, éthylamine, éthylène, éthers-oxydes notamment l'ETBE (éthyl-*tert*-butyl-éther)...
- Constituant de carburants : le « bioéthanol », éthanol obtenu à partir de matières premières végétales, peut être utilisé seul ou avec de l'essence ; les mélanges essence-éthanol renferment 5 à 95 % de bioéthanol selon les pays. En France, les super carburants suivants sont commercialisés :
  - ✓ SP95 (disponible depuis 2000) contient jusqu'à 5 % en volume d'éthanol,
  - ✓ SP95-E10 (disponible depuis 2009) contient jusqu'à 10 % en volume d'éthanol,
  - ✓ Super Ethanol E85 (disponible depuis 2007) contient de 65 à 85 % en volume d'éthanol.
- Désinfectants, produit de protection (comme biocide, cf. § Réglementation).
- Composant de boissons alcoolisées (INRS).

#### **II.5. Les étapes nécessaires effectuées sur la lignocellulose pour la production de bioéthanol**

La structure complexe de la lignocellulose se traduit par la nécessité d'un procédé en plusieurs étapes pour produire du bioéthanol

##### **II.5.1. Prétraitement**

La structure de la lignocellulose est constituée de polymères de cellulose et hémicellulose enfermées dans de la lignine; le rapport de ces composants peut varier considérablement, selon la source de la biomasse.

Le prétraitement de la biomasse lignocellulosique favorise la dépolymérisation et l'élimination de la couche externe de lignine. La déformation de cette structure entraîne l'exposition de la cellulose et l'hémicellulose et l'augmentation de la surface de la biomasse ce qui est essentiel pour une hydrolyse optimale.

Différentes méthodes physiques, chimiques et biologiques de prétraitement sont utilisées; dans certains cas, une combinaison de méthodes peut être nécessaire pour donner un meilleur résultat. La méthode de prétraitement exploitée dépend fondamentalement de la source de biomasse, mais Le prétraitement initial peut également influencer la sélection d'autres dans le processus restant (**Kumar et Gaurav, 2017**).

### **II.5.2. Saccharification**

La saccharification est le procédé dans lequel les polymères de la cellulose et l'hémicellulose sont hydrolysés en sucres réducteurs fermentescibles. Les monomères de sucres prévalent produits sont les hexoses: glucose, galactose et mannose; et les pentoses: xylose et arabinose. La saccharification est couramment réalisée par des méthodes chimiques et enzymatiques (**Kumar et Gaurav, 2017**).

### **II.5.3. Désintoxication**

L'utilisation des acides dans le prétraitement et la saccharification de la lignocellulose conduit à la formation de sous-produits qui agissent en tant qu'inhibiteurs pendant la fermentation, ce qui entraîne une réduction de productivité. Les inhibiteurs se répartissent généralement en trois catégories: acides faibles, furanes et composés phénoliques, tels que l'acide acétique, le furfural et la vanilline, respectivement (**Kumar et Gaurav, 2017**). La nature et la quantité des composés inhibiteurs présents dans l'hydrolysate est fortement dépendant de les méthodes de prétraitement/saccharification employées (**Zha et al, 2014**).

### **II.5.4. Sélection de l'organisme**

Pendant la fermentation, les sucres de l'hydrolysate sont exploités pour la production de bioéthanol par un micro-organisme. Les principaux critères à prendre en compte dans la sélection d'un micro-organisme approprié comprennent: la capacité d'utiliser des hexoses et des pentoses, rendement en éthanol, le taux de production et la tolérance aux inhibiteurs. La levure *Saccharomyces cerevisiae* est capable d'utiliser efficacement les hexoses (**Kumar et Gaurav, 2017**).

### **II.5.5. Composition et fonctionnement des milieux de culture**

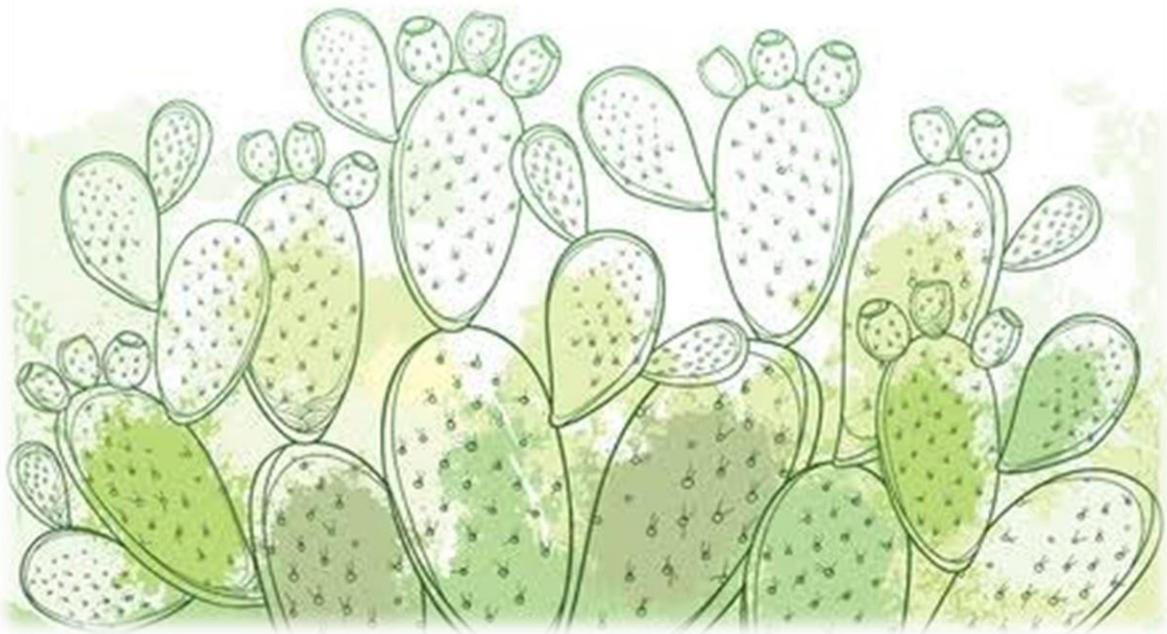
Le milieu doit satisfaire les besoins en nutriments et en oxygène de l'organisme en fermentation, et par conséquent, la composition des milieux dépend principalement du micro-

organisme choisi (**Kumar et Gaurav, 2017**).

#### **II.5.6. Récupération de l'éthanol**

C'est l'étape final qui est La purification du produit par un chauffage dans une colonne de distillation sur une température qui égale 78,37 °C, dans cette étape le bioéthanol et l'eau sont suffisamment séparé par une simple distillation (**Kumar et Gaurav, 2017**).

*CHAPITRE III :*  
*FERMENTATION*



## Introduction

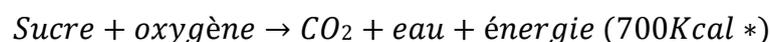
La fermentation est un phénomène naturel qui se produit lorsque la matière organique se décompose (**Burillard et al, 2016**).

L'utilisation de la fermentation par l'homme, d'autre part, a commencé par une approche empirique. Initialement, il était utilisé pour préserver les dents, préparer des produits de boulangerie et des boissons alcoolisées. (**Burillard et al, 2016**).

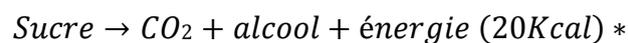
## I. Les différents types de fermentation

Il existe différents types de fermentations. Elles sont classées en fonction des déchets produits et des ferments utilisés. Il existe la fermentation alcoolique, la fermentation lactique, la fermentation acétique.

Plusieurs changements peuvent se produire pendant la fermentation alcoolique, y compris la libération de dioxyde de carbone, une augmentation de la température et de la couleur, un changement d'odeur et de saveur, une diminution de la densité (transformation du sucre en éthanol) et une augmentation du volume. Durant la panification, les levures de boulangerie sont du genre aéroanaérobie. Elles respirent et se multiplient rapidement en réponse au glucose, mais sans produire d'alcool (**Burillard et al, 2016**).



Dans l'anaérobiose, une grande partie du sucre est convertie en éthanol, ce qui réduit la quantité d'énergie libérée. Un faible taux de multiplication cellulaire est observé.



\* énergie libérée par oxydation totale d'une molécule de glucose.

## II. Modes de conduites des fermenteurs

La fermentation peut se dérouler par trois types de procédés: batch, fed-batch (ou semi-continu) et continu. À l'échelle industrielle, les processus par lots et en continu sont les plus courants (**Razki et Bekki, 2014**).

**II.1. Fermentation Batch**

C'est un système fermé où il n'y a pas d'ajouts de nutriments dans le milieu de culture, et la cellule se développe jusqu'à l'épuisement de substrats et le changement des conditions du milieu comme le pH et l'accumulation de produits toxiques, etc. ce qui conduit à l'arrêt de la croissance. Cependant, il est possible d'introduire dans le milieu le réactif de neutralisation, en quantité suffisamment faible, ou encore un produit anti mousse (**Scriban, 1999**).

**II.2. Fermentation Fed-Batch**

Le procédé Fed-batch est donc une culture en batch dans laquelle l'inoculum est ajouté dans un faible volume de milieu ; lorsque la culture a atteint la phase exponentielle, le milieu est ajouté de manière continue ou séquentiellement, de manière à ce que la culture reste en phase exponentielle de croissance (**Chillet, 2011**).

**II.3. Fermentation en mode continu**

Elle consiste à ajouter du milieu neuf stérile tout en éliminant la culture en continu par un trop-plein afin d'éliminer le même volume de culture que de milieu neuf rajouté. Le système est alors maintenu dans un état d'équilibre (**Chillet, 2011**).

**II.4. Le Bioréacteur à recyclage cellulaire**

Certains procédés permettent de réaliser une fermentation continue avec recyclage de la biomasse. Ils permettent d'obtenir une biomasse encore plus importante en recyclant les cultures par réalimentation du bioréacteur avec les microorganismes produits (**chillet, 2011**).

**III. Facteur influençant sur la fermentation alcoolique**

Il est essentiel d'ajuster et de contrôler de nombreux paramètres externes afin d'obtenir une fermentation optimale en termes de vitesses de croissance ou du taux de croissance spécifique (**Daccache, 2019**).

**III.1. Concentration en substrat carboné**

En général, l'inhibition du substrat se manifeste de manière significative pour des concentrations allant de 150 à 250 g (**Daccache, 2019**). Lorsque la source de carbone est rapidement assimilable par les microorganismes, il se produit souvent une répression catabolique appelée effet glucose. Cet effet correspond à une inhibition de la biosynthèse de

métabolites secondaires tant que la source de carbone n'est pas entièrement métabolisée. (Chillet, 2011).

### **III.2. Teneur en Oxygène**

La concentration d'oxygène gazeux dans le milieu de culture est un paramètre important qui influe directement sur le métabolisme bactérien. Plusieurs auteurs ont démontré que lorsque de faibles niveaux d'oxygène sont présents dans le système, la tolérance à l'éthanol peut augmenter considérablement (Chniti, 2015).

### **III.3. Température**

Des travaux de recherche ont démontré que le taux de croissance de *Saccharomyces cerevisiae* CBS80661 a été atteint à une température de 30 °C. Tandis qu'à une température de 33°C, la production d'éthanol a été affectée. Une température supérieure à 30 °C augmente le taux de synthèse de l'éthanol, mais augmente également leur sensibilité à l'éthanol, ce qui entraîne une perte de viabilité. L'effet de stress négatif (chocs osmotiques, inhibition par l'éthanol) augmente à mesure que la température augmente, ce qui entraîne une diminution de la viabilité et de l'activité cellulaire (Chniti, 2015).

### **III.4. pH**

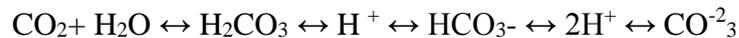
La valeur de pH idéale pour la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* est de 4 à 4,5. La production de l'éthanol provoque une baisse du pH cytoplasmique, ce qui conduit à la mort cellulaire; cette baisse du pH intracellulaire pourrait être due à un apport de protons ou à une accumulation d'intermédiaires de réaction (par exemple, acide acétique, glycérol, etc.) (Chniti, 2015).

### **III.5. Ethanol**

Il est signalé que l'éthanol libéré dans le milieu de fermentation devient toxique pour les levures et peut altérer leur fonction. Il peut dénaturer les sites actifs de certaines enzymes (p. ex. hexokinases, alcool déshydrogénase) en provoquant des changements structurels de la membrane plasmique. Ce qui pourrait entraîner une augmentation de la perméabilité aux ions ainsi qu'un changement dans l'équilibre des charges transmembranaires. En conséquence, l'éthanol produit par fermentation a ralenti l'assimilation de l'azote (Daccache, 2019).

### III.6. Gaz Carbonique

La solubilité du dioxyde de carbone peut être influencée par le pH et la température. Il peut être dissipé dans le milieu liquide sous forme d'acide carbonique ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), qui est dissocié en bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ), carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) et hydrogène ( $\text{H}^+$ ).



La présence de  $\text{CO}_2$  dans le milieu de culture affecte le métabolisme microbien en inhibant la croissance et la production. Son mécanisme d'inactivation lié à la modification de la composition de la membrane cellulaire, baisse du pH intracellulaire, inactivation enzymatique/suppression du métabolisme cellulaire et au déséquilibre ionique (Chniti, 2015).

### III.7. Agitation

L'homogénéisation des phases liquide, solide et gazeuse du milieu réactionnel est assurée par agitation. Un environnement trouble favorise l'agglomération cellulaire, et les agglomérats qui en résultent obstruent le mouvement des matériaux entre le milieu de culture et les cellules (Razafindralambo, 2008).

### III.8. L'activité de l'eau

La majorité des souches ne peuvent pas se développer à une activité de l'eau inférieure à 0,90; cependant, certains peuvent tolérer des pressions osmotiques plus élevées, correspondant à une activité osmotique d'environ 0,60. Ces levures sont connues sous le nom de xérotolérantes car elles ralentissent leur métabolisme (Razafindralambo, 2008).

### III.9. Taux d'ensemencement

Le taux d'initiation de la levure a un impact sur l'activité fermentative. Un pourcentage élevé ou faible provoque un ralentissement de la fermentation, même au point où la conversion du substrat en produit est réduite (Razafindralambo, 2008).

## IV. Les micro-organismes utilisés dans la production de bioéthanol

En plus de l'éthanol, les microorganismes produisent d'autres boissons alcoolisées, des acides organiques, des polyols, des cétones et des gaz (méthane, dioxyde de carbone, hydrogène, etc.). Plusieurs souches de *Clostridium* ont été identifiées comme bons producteurs d'éthanol.

Cependant, seul *Zymomonasmobilis*, qui a l'avantage d'être anaérobie, produit l'éthanol avec très peu de biomasse. Les levures sont considérées, aussi, comme meilleures micro-organismes ayant le potentiel pour ce type de fabrication. *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum*, *Schizosaccharomyces pombe* et *Kluyveromyces sp* sont les plus couramment utilisés. Cependant, *Saccharomyces cerevisiae* est la plus efficace en termes de production et de croissance à faible pH (environ 4), ce qui permet d'éviter la contamination (Rezki-bekki, 2014).

*Tableau III.1 : La liste des bactéries productrices d'éthanol (Buruiana, 2013)*

Bactérie	Substrat fermenté
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i> (thermophilic)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucose, xylose sucrose et cellobiose</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Clostridium thermocellum</i> (thermophilic)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucose et cellobiose</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Thermoanaerobacterethanolicus</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Xylose</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Thermoanaerobium brockii</i> (thermophilic)</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Thermobacteroides saceroethylicus</i> (thermophilic)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucose, sucrose et cellobiose</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Zymomonasmobilis</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucose, sucrose et cellobiose</li> </ul>

#### IV.1. La levure

#### V. Propriété de la levure

##### V.1. Caractéristiques microbiologiques des levures

Le mot levure provient du mot latin « levare » qui se traduit par le verbe « lever » comme levain, rappelle l'attitude de certaines d'entre elles à provoquer la « levée » des pâtes panifiables. Les levures sont des eucaryotes hétérotrophes qui partaient au groupe des

Champignons unicellulaires; certaines font des bourgeons qui se détachent pas, il se forme alors une courte chaîne de cellules appelée hyphe. Ces structures sont immobiles (**Berber, 2017**).

#### **V.1.1. Habitat**

Les levures sont des microorganismes ubiquistes. Elles se développent sur les végétaux riches en sucre comme les pommes, les raisins. On les trouve, également, à la surface ou à l'intérieur d'autres êtres vivants, dans les eaux, dans l'atmosphère et dans le sol (**Berber, 2017**).

#### **V.1.2. Morphologie**

La levure se présente sous forme de cellule unique libres ou associées deux à deux. Elle peut avoir différentes formes à savoir : sphérique, ovoïde, cylindrique, apicule, en bouteille, pyramidale. Sa dimension est de 2,5 à 10,5µm de large et de 4,5 à 21µm de long (**Larpent, 1991**).

#### **V.1.3. Cytologie**

La structure cellulaire des levures est différente par rapport aux bactéries ; le cytoplasme des cellules de levure contient les organites habituels des organismes végétaux supérieurs non photosynthétiques. La cellule est protégée par une paroi rigide (**Bouix et Leveau, 1991**).

#### **V.1.4. Reproduction**

Elles se reproduisent soit de façon sexuée, soit de façon asexuée selon les conditions du milieu (**Berber, 2017**).

### **VI. Les besoin nutritionnels de la levure**

#### **VI.1. Source de carbone**

Les sources les plus efficaces sont des oses (glucose, fructose et mannose) qui sont utilisables par plus de 400 espèces identifiées (**Pol, 1996**). Les sucres carbonés sont d'une grande importance pour la biosynthèse des constituants cellulaires variés (les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques), leur oxydation fournit l'énergie à la cellule (**Larpent, 1991**).

### VI.2. Source d'azote

Certains espèces levuriennes se caractérisent par une capacité à utiliser les nitrates et d'autres composés comme source d'azote: Les acides aminés, l'urée, la biotine et es bases puriques et pyrimidiques (**Bouix et Leveau, 1991**).

### VI.3. Les facteurs de croissances

Les sels minéraux et les oligoéléments agissent sur la multiplication et l'activité cellulaire (**Gourgaud et Sanglier, 1992**).

Parmi les métaux alcalins indispensables :  $Mg^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  et  $Mn^{2+}$  (**Pommier, 2003**).

Les vitamines (la biotine, la thiamine et l'acide pantothénique) aussi sont considérées comme des facteurs de croissance.

## VII. Souches microbiennes pour la production des quelques biocarburants

La sélection de souches microbiennes ne dépend pas uniquement au substrat mais aussi au rapport produit-substrat obtenu .*Clostridium acetobutylicum* est la souche microbienne la plus répandue pour la production de bio butanol. Le rendement de cette production a été amélioré en utilisant les souches *C. aurantibutyricum* et *C. Tetanomorphum*.

Nous citons ci-dessous différents souches microbiennes utilisées pour la production de bio butanol :

- *C. pasteurianum* : a été utilisé pour fermenter une biomasse algale.
- *C. acetobutylicum* fermente une biomasse lignocellulosique et hémi cellulosique
- Des cultures microbiennes mixtes ont été également utilisées avec des enzymes capables d'hydrolyser la cellulose et l'hémicelluloses pour améliorer la production de Bio butanol.
- *C. acetobutylicum* co-cultivée avec des champignons cellulolytiques fermentent la paille de blé.

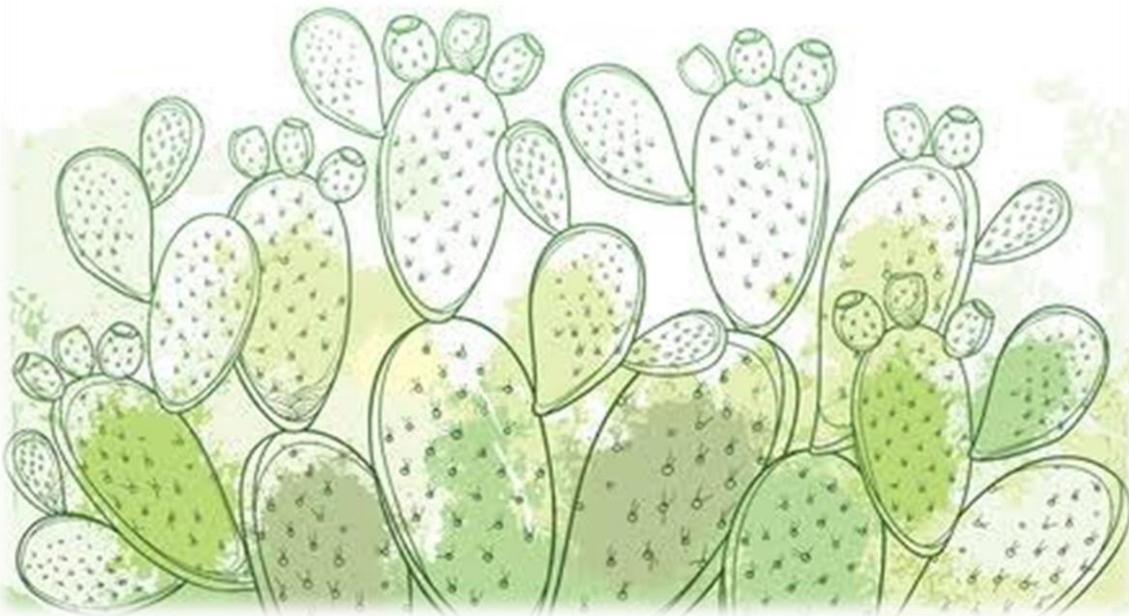
Une souche mutante de *C. beijerinckii* a été modifiée par l'Université de l'Illinois donne un rendement amélioré (**Kumar et Gaurav, 2017**).

## VIII. Récupération de produit de fermentation

### VIII. Distillation et purification

Le bouillon récupéré de la fermentation est une solution composé d'eau et d'éthanol. Cependant, l'éthanol ne compose que 5 à 12 % en poids et donc la purification du produit est un procédé essentiel pour augmenter la concentration d'éthanol. La différence entre les points d'ébullition de l'eau (100 °C) et de l'éthanol (78,37 °C) permet d'utiliser la distillation comme moyen de raffinement (**Kumar et Gaurav, 2017**).

*CHAPITRE IV :*  
*MATERIEL ET METHODES*



## Introduction

Le but de ce travail est de produire un biocarburant de 2<sup>ème</sup> génération qui n'est pas en concurrence avec la chaîne alimentaire : Le bioéthanol obtenu à partir de la plante la plus abondante dans le monde (la figue de barbarie) qui joue un rôle d'un facteur de croissance. Des méthodes expérimentales inspirées de travaux antérieurs (**Aissaoui et Kessouri, 2021**), ont été sélectionnées. Le procédé de production de bioéthanol est subdivisé en 6 parties principales:

- ✚ Caractérisation physicochimique de la plante étudiée *Opuntia ficus-indica* (OFI)
- ✚ Préparation du substrat et le milieu de culture.
- ✚ Les analyses des substrats utilisées.
- ✚ L'hydrolyse par chaleur.
- ✚ Préparation de l'inoculum.
- ✚ Fermentation éthanolique.
- ✚ Distillation alcoolique.

## I. Matériel

Nous avons utilisé des matériaux végétaux, biologiques et chimiques pour mener à bien ce projet. Nous avons également utilisé certains appareils. Ces produits et appareils sont répertoriés dans le tableau I.

**Tableau IV.1 : Matériel et Produits utilisés pour l'élaboration de procédé de la production de bioéthanol**

Type de Matériel	Matériel
Matériel Végétal	▪ Cactus Algérienne
Matériel biologique (micro-organisme)	▪ La levure boulangère ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )
Appareillage	▪ pH-mètre – Spectrophotomètre – Thermomètre – Balance - plaque chauffante – Etuve- Four- Distillateur- Centrifugeuse.
Réactifs chimiques	Acétone-HCl- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . NH <sub>4</sub> OH Chloroforme-NH <sub>4</sub> OH- Ethanol

### I.1. Matériel biologique «*Saccharomyces cerevisiae*»

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est l'organisme eucaryote le mieux étudié pour les raisons suivantes:

- ✓ Importance industrielle.
- ✓ Simplicité de l'organisation unicellulaire et la croissance rapide dans les conditions de laboratoire, Exigence des substrats peu économiques (**Zidani, 2009**).

#### I.1.1. Matériel végétal

##### I.1.1.1. Cactus «*Opuntia ficus-indica* »

###### ❖ Choix de substrat

Grâce à sa disponibilité, son abondance et sa composition en glucides fermentescibles et en éléments nutritifs, nous avons effectué ce choix de la plante OFI. C'est une plante qui pousse dans toute l'Algérie. Elle présente des adaptations morphologiques et physiologiques lui permettant de résister à la sécheresse, aux chaleurs torrides, aux vents violents aux tempêtes de sable et au sirocco (**Sadok et al, 2008**). Des propriétés offrant une meilleure adaptation aux conditions arides et semi-arides (**Abdel-Hameed et al, 2014**).



*Figure IV.1 : Photo de raquettes d'Opuntia ficus-indica*

## II. Le processus de la production de bioéthanol

Pour réaliser cette opération on passe par plusieurs étapes:

### II.1. Préparation du substrat avant la fermentation

#### ✚ L'extraction de jus de cactus

Après la récolte des cladodes de cactus, nous avons procédé à débarrasser les herbes et les

épines par un lavage, ensuite nous avons les découpé en petits morceaux et puis les broyer à l'aide d'un broyeur pour obtenir un gel de cactus. En fin, le gel a été filtré par une compresse pour obtenir le jus de cactus et préparer les différents milieux de fermentation (0 g, 100 g, 200 g, 300 g de jus de cactus).



*Figure IV.2 : Photo de la préparation du jus d'Opuntia ficus-indica*

#### ✚ La préparation de la poudre de cactus

Les petits morceaux de cladodes d'*Opuntia* sont placés dans une étuve réglée à une température de 105°C jusqu'à leur séchage total. Ensuite, ils se sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine. La conservation a été effectuée dans une boîte stérile à une température ambiante.

### II.2. Les analyses de la plante utilisée comme un substrat

#### II.2.1. Analyses physiques d'OFI

##### II.2.1.1. Aspect de raquette (cladodes)

Elles ont une forme des raquettes (cladodes) et leurs couleurs est vert mat, elles contiennent des petites aréoles et d'épines.

#### II.2.2. Analyses chimique des raquettes d'*Opuntia ficus-indica*

##### II.2.2.1. Détermination du pH

###### ✓ Principe

Le principe est basé sur la différence du potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence plongée dans le produit. Cette détermination est réalisée à l'aide d'un pH mètre.

### II.2.2.2. Solubilité

#### ✓ Principe

La solubilité est la capacité d'une substance à être dissoute pour obtenir un liquide homogène.

#### ✓ Mode opératoire

Après la récolte et le broyage des raquettes de cactus par un mixeur électrique jusqu'à l'obtention d'un gel. Ce dernier est partagé dans trois (03) béchers différents. Le premier bécher contient de l'acétone, de l'éthanol dans le deuxième bécher et de l'eau distillée dans le troisième bécher. A la fin, on place chaque bécher sur un agitateur magnétique pendant 30 minutes.

### II.2.2.3. La perte à la dessiccation

#### ✓ Principe

La perte de masse exprimée en pourcentage m/m.

#### ✓ Mode opératoire

- Mettre 10g de la poudre *d'O. ficus- indica* dans l'étuve à 115°C pendant 2h.
- Placer l'échantillon dans un dessiccateur contenant du gel de silice anhydre.
- Laisser refroidir puis peser et noter la masse.

### II.2.2.4. Détermination de la teneur en eau

#### ✓ Principe

C'est une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve à la température de 100 à 105°C et sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Pour éviter d'humidité, il faut mettre les creusets dans un dessiccateur.

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante:

$$Teneur\ en\ eau\ (\%) = \left[ \frac{(P_2 - P_3)}{(P_2 - P_0)} \times 100 \right]$$

Avec:

- ✓  $P_0$  = La masse du creuset vide;
- ✓  $P_1$  = La masse en «g » de la prise d'essai avant dessiccation ;
- ✓  $P_2$  = La masse en «g» de la prise de (essai+ creuset) avant dessiccation;
- ✓  $P_3$  = La masse en «g» de la prise de (essai+ creuset) après dessiccation.

### II.2.2.5. Détermination de la teneur en matière sèche

La teneur en humidité est calculée par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche(\%)} = 100 - \text{le taux d'humidité(\%)}$$

### II.2.2.6. Détermination de la teneur en cendres totaux

#### ✓ Principe

C'est la quantité de la substance résiduelle non volatile obtenue après la calcination totale de l'échantillon.

#### ✓ Mode opératoire

- Chauffer le creuset pendant 30 min.
- Mettre 1g de la poudre de cactus dans le creuset.
- Placer le creuset dans l'étuve pendant 1h à 100 jusqu'à 105°C puis incinérer dans un four a moufle à une température de 600+25°C pendant 2h.
- Répéter l'opération jusqu'à l'obtention d'une masse constante.
- Laisser le creuset dans le dessiccateur, après chaque incinération, pour se refroidir. Si les cendres contiennent encore des particules noires après l'incinération, plonger les dans l'eau chaude et les filtrer sur un filtre sans cendres.
- Incinérer de nouveau le résidu avec le filtre, jusqu'à une masse constante.

La teneur en cendres est donnée par la formule suivante:

$$T = \left[ \frac{(M_1 - M_0)}{E} \right] \times 100\%$$

Avec:

- ✓ **M1** = masse final (creuset + cendre totale) en gramme;
- ✓ **M0** = masse du creuset vide en gramme;
- ✓ **E** = prise de la matière végétale.

### II.2.2.7. Détermination de l'indice de gonflement

#### ✓ Principe

Ce paramètre indique la présence de polysaccharides (mucilages, gommés) dans l'échantillon végétal. C'est le volume, en millilitres, qu'occupe 1g de l'échantillon gonflé dans l'eau.

#### ✓ Mode opératoire

- Mettre 1g de la poudre *d'Opuntia ficus-indica* dans une éprouvette graduée à bouchon rodé h = 20cm et d = 20cm.
- Humecter l'échantillon avec 1 ml de l'alcool et le volume, en millilitres, qu'occupe 1g de l'échantillon gonflé.
- Ajouter 25 ml de l'eau distillée.
- Agiter énergiquement pendant 3h après filtrer avec du papier filtre
- Noter la masse finale.

La valeur de l'indice de gonflement est déterminée par la valeur suivante :

$$IG = \left( \frac{\text{la masse initiale} + \text{la masse finale}}{2} \right)$$

### II.2.3. Les analyses photochimiques

#### II.2.3.1. Recherche des polyphénols totaux

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH qui est un monohydroxy benzène. Les composés phénoliques sont très répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage. Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins) (Attou, 2011).

**II.2.3.1.1. Tanins****✓ Principe**

En présence de  $\text{FeCl}_3$  à 1% ; les extraits aqueux tanniques se colorent en bleu-vert, bleu sombre ; ou vert ou se forme de précipités.

**✓ Mode opératoire**

Dans une erlenmeyer de 250 ml, introduire 5g de poudre végétale dans 100 ml d' eau distillée bouillante. Fermer avec un verre de montre. Laisser infuser pendant 15 mn puis filtrer sur papier filtre et rincer le résidu avec un peu d' eau distillée chaude, de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

On met dans un tube à essai 5 ml de l'infusé à 5% et On ajoute goutte à goutte environ 1ml de solution aqueuse diluée de  $\text{FeCl}_3$  à 1% après On remarque une Coloration verdâtre donc il ya les tanins caté chiques.

Introduire dans un tube à essai 5 ml de l' infusé à 5%, ajouter goutte à goutte environ 1ml de solution aqueuse diluée de  $\text{FeCl}_3$  à 1% : en présence des tanins, il se développe une Coloration verdâtre (tanins caté chiques) ou bleu noirâtre (tanins galliques).

**II.2.3.1.2. Tanins hydrolysables (galliques)**

Sont des hétéro polymères possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose ; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques.

Ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci, on distingue : les tanins galliques (Gallo tanins), ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tanins ellagiques (Ellagitanins), Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique.

**✓ Principe (Adouane, 2015).**

Cette méthode est basée sur une réaction avec le chlorure ferrique. Le mélange de l'extrait tannique avec le réactif chlorure ferrique provoque la coloration rouge violet du complexe, d'où la formation, des ions ( $\text{Fe}^{3+}$ ).

✓ **Mode opératoire (Dehak, 2013).**

Ajouter à 30 ml d'infusé à 5%, 15ml de réactif de Stiasny puis chauffer au bain marie à 90°C pendant 15 à 30 minutes dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. L'apparition d'un précipité montre la présence des tanins cathéchiques (Tanins condensées). A 02 ml de filtrat obtenu, ajouter 0,2 g de pb (CH<sub>3</sub>COO) 2 et 1ml de FeCl<sub>3</sub> à 1% 1ml). Le développement d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques.

**II.2.3.1.3. Les flavonoïdes**

✓ **Définition**

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. On estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes.

Ce sont des pigments végétaux jaunes orangés (leur nom venant du mot latin *Flavus* : jaune). Ils sont formés par un squelette à 15 carbones (structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Communément cyclisé pour former le cycle C (Dehak, 2013)

**II.2.3.1.4. Anthocyane**

✓ **Définition**

Les anthocyanes (« fleur bleu sombre » en grec) sont des pigments solubles dans l' eau et sont contenus dans la vacuole de la cellule, un grand compartiment rempli d' eau. Ces pigments vont du rouge orangé au bleu et donne leur couleur aux pétales, aux feuilles ou aux fruits. Il y en a par exemple dans l' aubergine, les myrtilles ou les bleuets.

✓ **Principe**

On prend 5 ml de l'infusé on les ajoute 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et 5 ml de NH<sub>4</sub>OH après On remarque une coloration, donc on conclure la présence d'anthocynes.

✓ **Mode opératoire**

5ml d' infusé sont ajoutés de 5ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré puis 5ml de NH<sub>4</sub>OH, si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyanes (Hadj-Larbi, 2012).

### II.3. L'hydrolyse par la chaleur

Le jus de cactus est chauffé à température de  $100\text{C}^0$  pendant une heure sous une agitation. Cette opération consiste à détruire la cellulose et l'hémicellulose pour libérer les sucres fermentescibles tels que le glucose, galactose...

### II.4. Préparation de l'inoculum

Une masse de 20g de la levure *S. cerevisiae* est introduite dans un volume d'eau distillée à 50 ml, puis, chauffée à  $40^{\circ}\text{C}$ . Ensuite, nous avons inoculé le milieu de culture contenant 500 g de saccharose et 1700 ml d'eau distillée.

### II.5. La fermentation éthanoïque

Nous avons réalisé une série de Cinq fermentations avec différentes concentration du gel de cactus (0g, 100g, 200g, 300g). Dans la fermentation n°5, nous avons fermenté le cactus sans l'ajout du saccharose.

- ✓ La fermentation s'est déroulée en anaérobiose
- ✓ L'agitation magnétique est assurée par un agitateur magnétique pour favoriser l'homogénéisation du milieu de culture.
- ✓ Le temps de fermentation est fixé à 15 jours.
- ✓ On procède chaque 1 h à des prélèvements pour réaliser les différentes analyses nécessaires.



*Figure IV.3: Dispositif du procédé de la fermentation éthanoïque*

**II.5.1. Suivi de la fermentation**

Au cours de la fermentation, nous avons suivi le pH, la concentration des sucres, l'évolution de la biomasse et la mesure du volume de CO<sub>2</sub>. Pour cela, nous avons effectué des prélèvements d'un volume de 5 ml du milieu de fermentation chaque une heure.

**II.5.2. Mesure de pH**

La mesure de la valeur de pH s'effectue par une lecture directe sur le pH-mètre en plongeant l'électrode dans le volume prélevé.

**II.5.3. Teneur des sucres réducteurs par la méthode de DNS (Acide Dinitrosalicylique)**

C'est une méthode basée sur la formation d'un chromatophore entre le réactif DNS et les terminaisons réductrices des molécules de sucres. En effet, à température élevée, en milieu basique et en présence des sucres réducteurs, le réactif DNS de couleur jaune est réduit en acide 3-amino-5-nitrosalicylique (brun), et les groupements aldéhydes des sucres sont oxydés en groupements carboxyles.

**✚ Préparation de la solution de DNS**

- 1 g de DNS dans un volume de 40ml d'eau distillée, mélanger bien jusqu'à sa dissolution ;
- Ajouter 30 g de potassium- sodium tartrate tetrahydrate et 20 ml de solution de NaOH 2M.

**➤ Mode opératoire**

- Mettre 0.1ml de l'échantillon dans un tube à essai et ajouter 3 ml de DNS ;
- Chauffer le mélange au bain marie à 80°C pendant 20 mn ;
- Laisser le mélange à refroidir à température ambiante ;
- Mesurer la densité à 540 nm contre le blanc.

**✚ Courbe standard**

Elle est réalisée à partir d'une solution de glucose à 0.005 mol /l

### II.5.3. Mesure de la biomasse

La mesure de l'opacification du milieu de culture est une technique très précise pour mesurer la biomasse, c'est la masse sèche présente par unité de volume.

#### Courbe standard

La biomasse microbienne est récupérée généralement par centrifugation, lavée afin d'éliminer le milieu de culture retenu entre les cellules et séchée à 105°C jusqu'à poids constant (Leveau *et al.*, 1980 ; Scriban, 1999).

#### ➤ Mode opératoire

- 200ml de culture bactérienne sont centrifugées puis lavées avec de l'eau distillée 3 fois ;
- Le culot est remis en suspension dans 60ml d'eau distillée ;
- La DO est lue à 600nm ;
- 50 ml de cette suspension est séchée à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (soit m).
- La concentration en biomasse notée X se calcule par l'équation suivante :

$$X(mg.l^{-1}) = \left(\frac{m}{50}\right) 10^3$$

- Le reste (10ml) est utilisé pour la préparation des dilutions à différentes concentrations. Pour chaque dilution, la prise de DO est effectuée à 600nm.
- La courbe de DO en fonction de la concentration en biomasse est ainsi établie.

### II.5.4. Mesure la pression de CO<sub>2</sub>

Le CO<sub>2</sub> produit au cours de la fermentation suite à la dégradation des sucres, peut être mesuré par la méthode de déplacement de liquide avec un montage permettant d'effectuer la mesure de la pression du CO<sub>2</sub>. Le bioréacteur est relié par l'intermédiaire d'un tube à une bouteille remplie d'eau, cette bouteille est reliée aussi avec un autre tube à une éprouvette vide. Le CO<sub>2</sub> libéré dans le bioréacteur entre dans la bouteille et pousse l'eau à sortir. Cette quantité d'eau récupérée dans le deuxième récipient est un volume équivalent à la pression de CO<sub>2</sub> libéré.

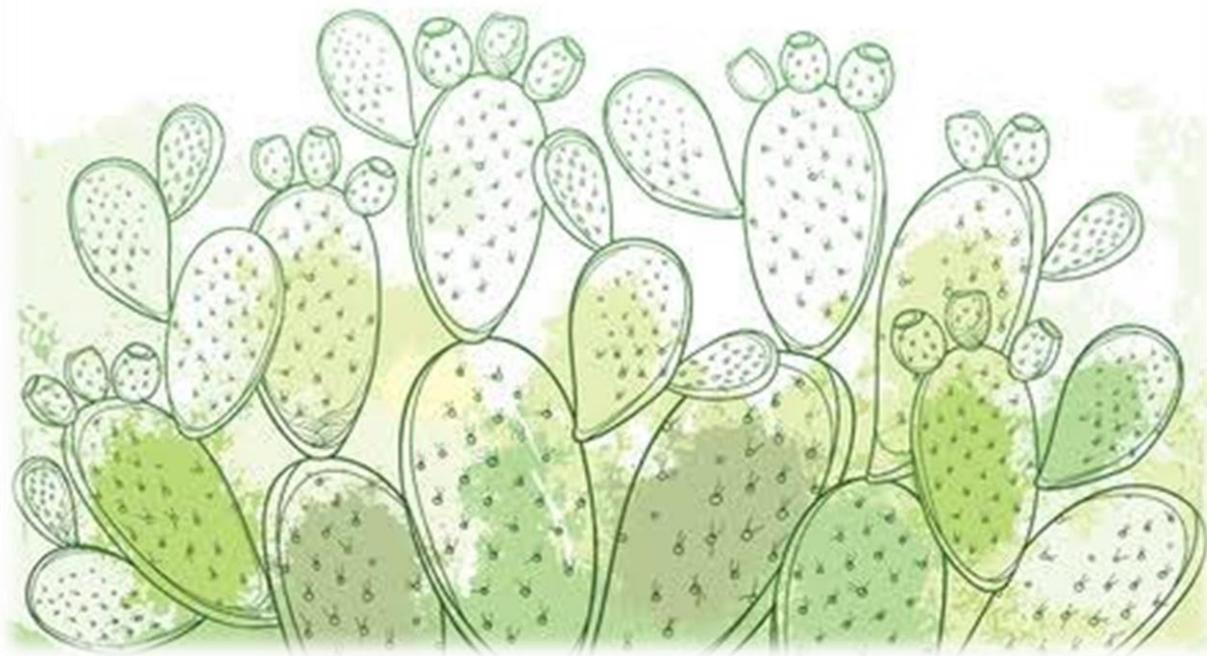
**II.6 Distillation alcoolique**

Les différences points d'ébullition de l'eau ( $100^{\circ}\text{C}$ ) et de l'éthanol ( $78,37^{\circ}\text{C}$ ) permet d'utiliser la distillation pour séparer les deux liquides. Après 15 jours de fermentation, le vin de cactus obtenu est distillée afin d'extraire le bioéthanol.



*Figure IV.4: Photo du dispositif de la distillation alcoolique*

***CHAPITRE V :  
RESULTATS ET DISCUSSION***



Les résultats, obtenus lors de la réalisation de ce travail, sont présentés, interprétés et discutés dans ce chapitre.

### I. Caractérisation physicochimique du matériel végétal utilisé comme matière première

Les analyses physicochimiques, de la plante étudiée, *Opuntia ficus indica*, réalisées dans le cadre de ce travail sont basées sur la détermination de la valeur de pH, du taux d'humidité, du taux de la matière sèche ainsi que leur indice de gonflement. Le tableau V.1 résume les résultats obtenus :

**Tableau V.1: Propriétés physicochimiques des cladodes d'*Opuntia ficus-indica***

<b>pH</b>	<b>6,3</b>
<b>Le taux d'humidité</b>	<b>94%</b>
<b>La matière sèche</b>	<b>6%</b>
<b>Indice de gonflement</b>	<b>1,2</b>

D'après le tableau, nous constatons une valeur de pH de 6,3, une richesse en eau par une valeur de 94% et un taux de matière sèche de 6%. Ces résultats ont été élaborés également dans de nombreux travaux dont les valeurs trouvées sont: 95,76 % pour le taux d'humidité et 4,24% pour la matière sèche (**Djillali, 2018**). Aussi, (**Aissaoui et Kessouri, 2021**) ont constaté des valeurs de 92,68% et 7,32% pour l'humidité et la matière sèche, respectivement.

Par contre, la valeur de pH est un peu élevée par rapporte à celle trouvée par (**Mostefaoui et sefouane, 2015**) (4,64) et celle de (**Aissaoui et Kessouri, 2021**)(4,13). Cette différence pourrait être expliquée par la période de récolte et le stade de croissance, taille et poids des cladodes de la plante (**Sadok et al, 2009**).

La valeur de l'indice de gonflement est de 1,2 beaucoup inférieure à 10, ce qui indique la présence d'une faible quantité de mucilages.

### II. Etude phytochimique de la poudre d'OFI

Cette étude est basée sur des réactions de coloration et /ou de précipitation, les résultats du screening phytochimique des Cladodes d'*Opuntia ficus-indica* (OFI) sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V.2 : Propriétés phytochimique des Cladodes d'*Opuntia ficus-indica*

Groupes	Cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i>
Polyphénols totaux	+
Flavonoïdes :	+
Anthocyane	
Tanins hydrolysables	+

(+) présence

D'après les résultats du tableau V.2, nous notons que les cladodes d'*OFI* renferment des polyphénols totaux, des flavonoïdes anthocyanes et des tanins hydrolysables. Ces résultats corroborent avec d'autres travaux qui confirment la richesse de cette partie de la plante en polyphénols, sucres, acide ascorbique (vitamines C), fibres, potassium et magnésium (**Sadok et al, 2009**). Ces chercheurs ont constaté, également, une diminution significative de ces constituants bioactifs en fonction de la croissance.

En effet, l'augmentation des teneurs en molécules bioactives dans les végétaux est due à la contamination par les microorganismes pathogènes. Elle correspond à la mise en place de mécanismes de défense de la plante. Aussi, cette teneur est influencée par d'autres facteurs, comme la maturité au moment de la récolte, les facteurs génétiques, les facteurs environnementaux, la transformation et l'entreposage (**Didderen et al, 2008**). Et plus de leurs intérêts alimentaires, ces substances possèdent des propriétés curatives et thérapeutiques importantes telles que : des propriétés anti-inflammatoire, hypoglycémiant, cicatrisant, antioxydant, anticancéreuse, neuroprotectrice, hépato protectrice, antiproliférative, analgésique, antivirale et antimicrobienne, etc. (**Didderen et al, 2008, Petruk et al, 2017**). Les cladodes d'*OFI* représentent, également, une bonne source d'antioxydants naturels avec des applications possibles dans les industries alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques. Ces activités sont dues à la présence de composés phénoliques (**Aguirre et al, 2013, Petruk et al, 2017**).

### III. Fermentations alcooliques

Nous avons réalisé une série de fermentations alcooliques en mode « batch » sur milieux de culture synthétiques. Ces derniers sont composés du saccharose comme source de carbone enrichis avec différentes quantités de jus de cactus. Ceci est dans le but de vérifier son

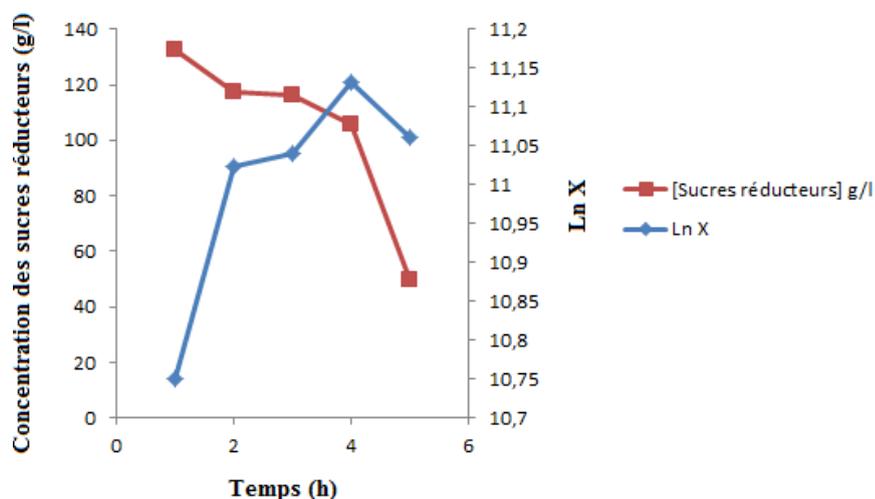
efficacité à améliorer la fermentation et augmenter la production d'éthanol.

Des prélèvements de 5 ml ont été effectués au cours de ces fermentations afin de suivre l'évolution des différents paramètres étudiés.

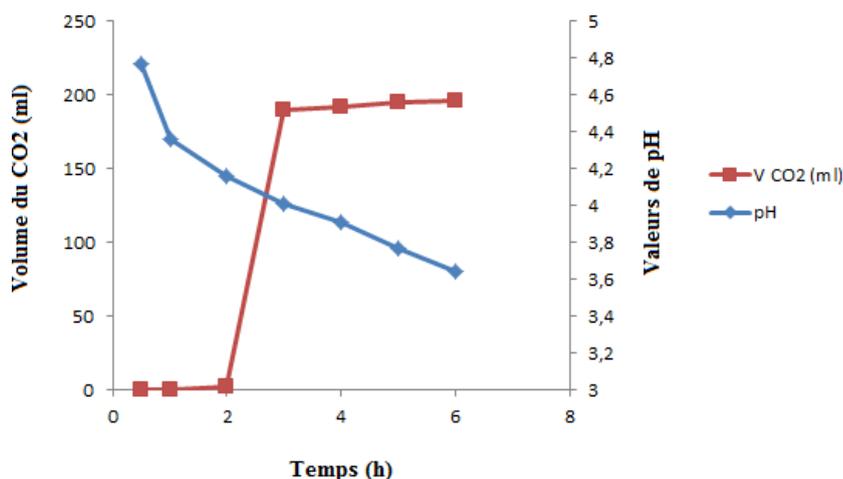
### III.1. Fermentation sur le milieu de culture n°1

Le milieu de culture de cette fermentation est composé de 500g de saccharose avec un volume total de 1700 ml. Le sucre est une source de carbone facilement assimilable par la levure et qui conduit directement à la production de bioéthanol. Cette fermentation est considérée comme une expérience témoin.

Les résultats des cinétiques de l'évolution de la biomasse, des sucres réducteurs, du CO<sub>2</sub> et de pH sont illustrés dans les figures V.1 et V.2.



*Figure V.1: Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation*



*Figure V.2: Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation*

Nous remarquons d'après la figure V.1 une augmentation exponentielle de la production de la biomasse durant les Cinq (05) premières heures de la fermentation avec une diminution importante de la quantité des sucres réducteurs dans le milieu de fermentation. Ce qui signifie la dégradation de ces derniers par la levure pour produire de la biomasse. De plus, la figure V.2 montre une diminution de la valeur de pH de 4,77 à 3,64 avec une libération du gaz carbonique durant la même période. Ce qui traduit la production de bioéthanol avec plusieurs acides organiques.

Le suivi de la valeur du pH au cours des fermentations est primordial car il permet d'asservir l'ajout automatique de base pour maintenir une valeur optimale. Sinon, l'activité microbienne serait inhibée par une acidité excessive. Un accroissement important de la densité microbienne se traduit généralement par une faible variation du pH.

Le bioéthanol produit est un métabolite primaire puisque sa production s'effectue pendant la phase exponentielle de la croissance. Nous avons récupéré, à la fin de cette fermentation, un volume d'éthanol de 78 ml qui correspond à 61,54 g/l et 4,58% par rapport au milieu de fermentation.

### III.1.1. Paramètres cinétiques

Ce sont le taux de croissance ( $\mu_{x \text{ exp}}$ ), le temps de doublement ( $t_D$ ), la productivité volumique horaire globale ( $P_{vhg}$ ) et le rendement de croissance par rapport au substrat ( $Y_{x,s}$ ). Les deux premiers paramètres permettant de caractériser une croissance dans des conditions expérimentales données. C'est-à-dire la détermination de leur valeur doit se faire pendant la phase exponentielle de la croissance. La productivité est la quantité de produit formé par volume de milieu et par unité de temps et le rendement de croissance par rapport au substrat est le rapport de la quantité de biomasse produite sur la quantité de substrat métabolisé. Ce sont des critères économiques majeurs en industrie afin que le procédé soit considéré comme rentable.

*Tableau V.3 : Paramètres cinétiques de la fermentation n°1*

Paramètres cinétiques	$\mu_{x \text{ exp}} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$t_D \text{ (h)}$	$P_{vhg} \text{ g.l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	$Y_{x,s} \text{ (g/g)}$
	0,093	7,42	8,79	0,20

Nous remarquons d'après le tableau ci-dessus que la levure possède un taux de croissance de  $0,093 \text{ h}^{-1}$  et un taux de doublement de  $7,42 \text{ h}$  pour métaboliser les sucres en biomasse et éthanol. Ce dernier a été libéré avec une productivité de  $8,79 \text{ g.l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  et un rendement de croissance par rapport au substrat de  $0,20 \text{ (g/g)}$ .

### III.2. Fermentation sur le milieu de culture n°2

Pour cette fermentation, nous avons utilisé un milieu de culture synthétique composé de  $500 \text{ g}$  de saccharose et  $100 \text{ ml}$  de jus d'OFI. Le but de cet ajout est de vérifier l'effet d'*Opuntia* à améliorer la production de l'éthanol. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures V.3 et V.4.

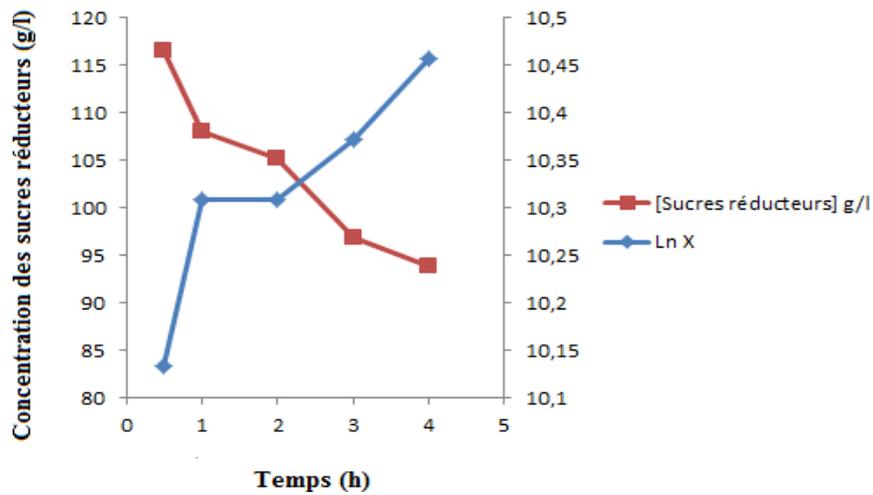


Figure V.3 : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation

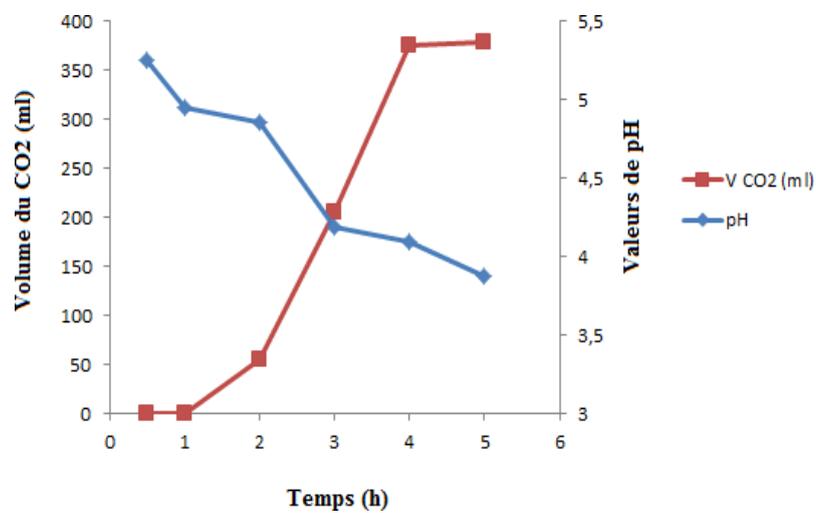


Figure V.4 : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation

Nous observons d'après les figures une augmentation de la valeur de biomasse accompagnée d'une production de CO<sub>2</sub> et par conséquent de l'éthanol. Cette évolution se déroule en même temps que la dégradation des sucres avec une diminution de pH. Nous remarquons aussi que la quantité de biomasse produite a diminué dans ce milieu de culture par rapport à celui de la fermentation n°1. Par contre, la quantité de bioéthanol produite a augmenté dans ces conditions (71,01 g/l). Ce qui signifie que les sucres ont été métabolisés beaucoup plus pour la production de l'éthanol que la biomasse. Des travaux de recherches mentionnent que les microorganismes se développent efficacement dans les milieux complexes, grâce à la présence de composants qui peuvent être utilisés comme précurseurs dans les différentes voies métaboliques (Pérez-Cadena et al.,2018).

**Tableau V.4 : Paramètres cinétiques de la fermentation n°2**

	$\mu_{\text{exp}}$ (h <sup>-1</sup> )	t <sub>D</sub> (h)	P <sub>vhg</sub> g.l <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup>	Y <sub>x,s</sub> (g/g)
Paramètres cinétiques	<b>0,073</b>	<b>9,49</b>	<b>10,15</b>	<b>0,105</b>

Le tableau ci-dessus illustre des valeurs de 0,073 h<sup>-1</sup> et de 9,49 h pour le taux de croissance et le temps de doublement de la population de la levure, respectivement. Nous constatons une diminution de la vitesse spécifique de croissance qui a été traduite par une diminution de la quantité de biomasse formée. Quant à la productivité, nous remarquons une augmentation de sa valeur. Ce qui nous permet de conclure que l'ajout de jus de cactus a influencé positivement sur la production d'éthanol. Le rendement de croissance par rapport au substrat est de 0,105 (g/g).

### III.3. Fermentation sur le milieu de culture n°3

Pour cette fermentation, nous avons augmenté la quantité de jus d'OFI à 200 ml dans un volume total de 1700 ml. Cette augmentation a été effectuée pour évaluer son efficacité à augmenter la production de l'éthanol. Le suivi de l'évolution des différents paramètres sont illustrés par les graphes ci-dessous.

Nous constatons que la valeur de la biomasse reste constante par rapport au milieu de culture de la fermentation n°2 (34,78 g/l et 35,72 g/l pour la fermentation n°2 et la fermentation n°3, respectivement). Les valeurs de pH restent aussi rapprochées (3,88 et 3,67 pour la fermentation n°2 et la fermentation n°3, respectivement). Cependant, nous avons remarqué une élévation du volume de CO<sub>2</sub> libéré (424 ml) pendant la fermentation n°3 par rapport au volume libéré durant la fermentation n°2 (378 ml). Cette différence est traduite par une obtention d'une quantité d'éthanol plus importante qui est de 112,04 g/l.

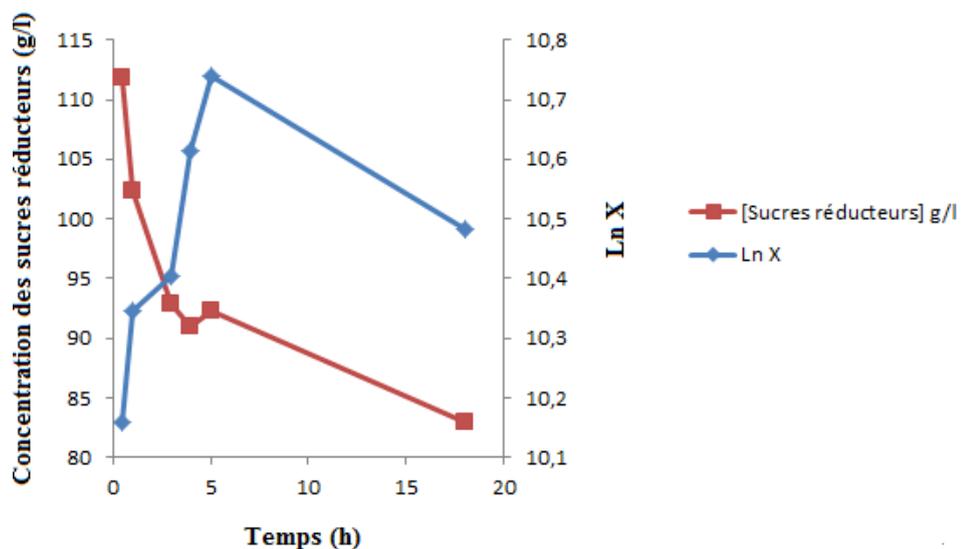


Figure V.5 : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation

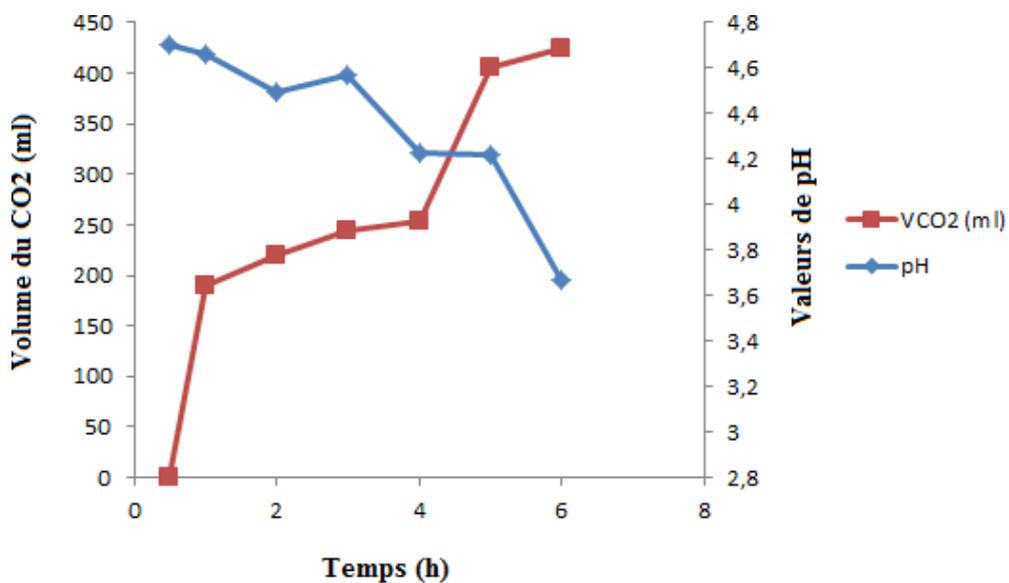


Figure V.6 : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation

Tableau V.5 : Paramètres cinétiques de la fermentation n°3

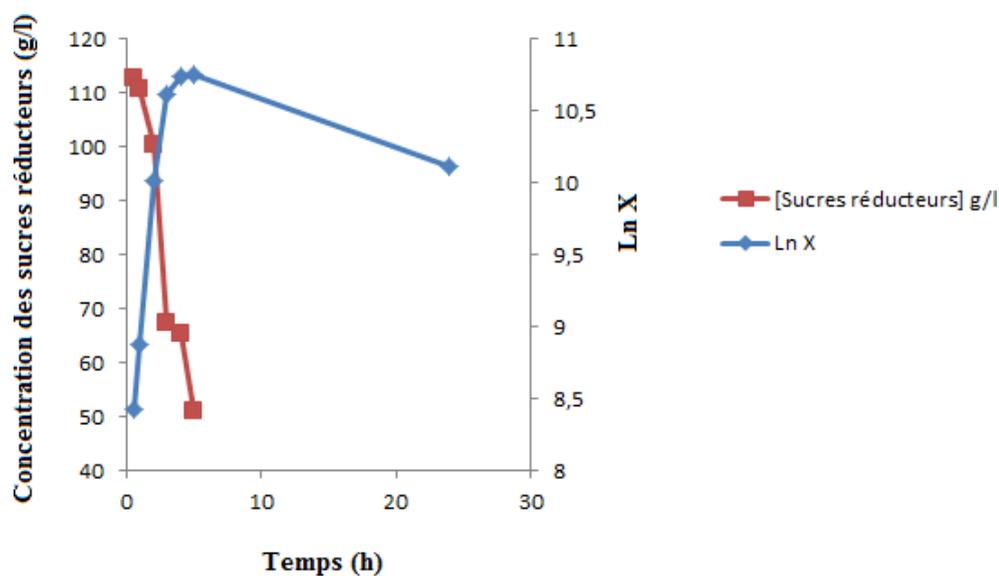
Paramètres cinétiques	$\mu_{\text{exp}} (\text{h}^{-1})$	$t_D (\text{h})$	$P_{\text{vhg}} (\text{g.l}^{-1}.\text{h}^{-1})$	$Y_{\text{x,s}} (\text{g/g})$
	0.083	8.35	16	0.108

Dans ces conditions, la vitesse spécifique de croissance a diminué à  $0,083 \text{ h}^{-1}$  avec un temps de doublement de 8,35 h. La productivité est de  $16 \text{ g.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$  et le rendement de croissance par rapport au substrat est de 0,108 (g/g).

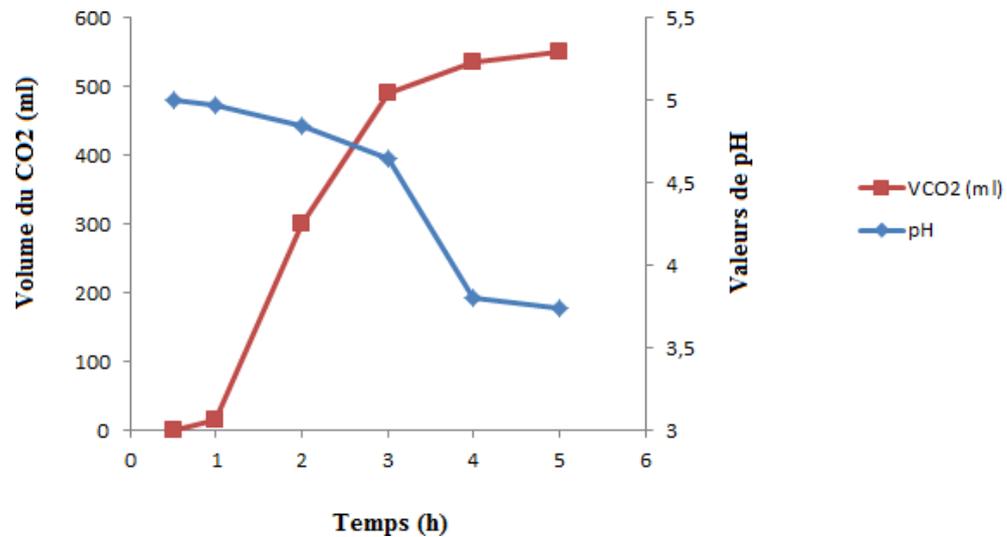
#### III.4. Fermentation sur le milieu de culture n°4

Le milieu de culture de cette fermentation est constitué de 300 ml de jus d'OFI et 500 g de saccharose dans un volume de 1700 ml.

Nous notons, d'après les figures ci-dessous, un volume important du  $\text{CO}_2$  libéré qui indique une bonne production d'éthanol traduite par une concentration de 154,64 g/l. Aussi, la courbe de la biomasse montre une diminution de la masse cellulaire produite (24,57 g/l). Le pH du milieu a diminué à une valeur de 3,74.



*Figure V.7 : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation*



*Figure V.8 : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation*

*Tableau V.6 : Paramètres cinétiques de la fermentation n°4*

	$\mu_{\text{exp}} (\text{h}^{-1})$	$t_D(\text{h})$	$P_{\text{vhg}}(\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	$Y_{\text{x,s}}(\text{g/g})$
Paramètres cinétiques	<b>0,089</b>	<b>7,78</b>	<b>22,09</b>	<b>0,132</b>

Le tableau V.6. Révèle une vitesse spécifique de  $0,089 \text{ h}^{-1}$ , un taux de doublement de  $7,78 \text{ h}$  et une productivité de  $22,09 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . Quant au rendement de conversion du substrat en biomasse, nous notons une valeur de  $0,132 \text{ (g/g)}$ .

### III.5. Fermentation sur le milieu de culture n°5

Ce dernier milieu de fermentation est composé uniquement de jus d'OFI sans l'ajout du saccharose. Le volume total est de  $1700 \text{ ml}$ . Par cette expérience, nous voulons démontrer la capacité de la levure de fermenter le cactus pour produire de l'éthanol.

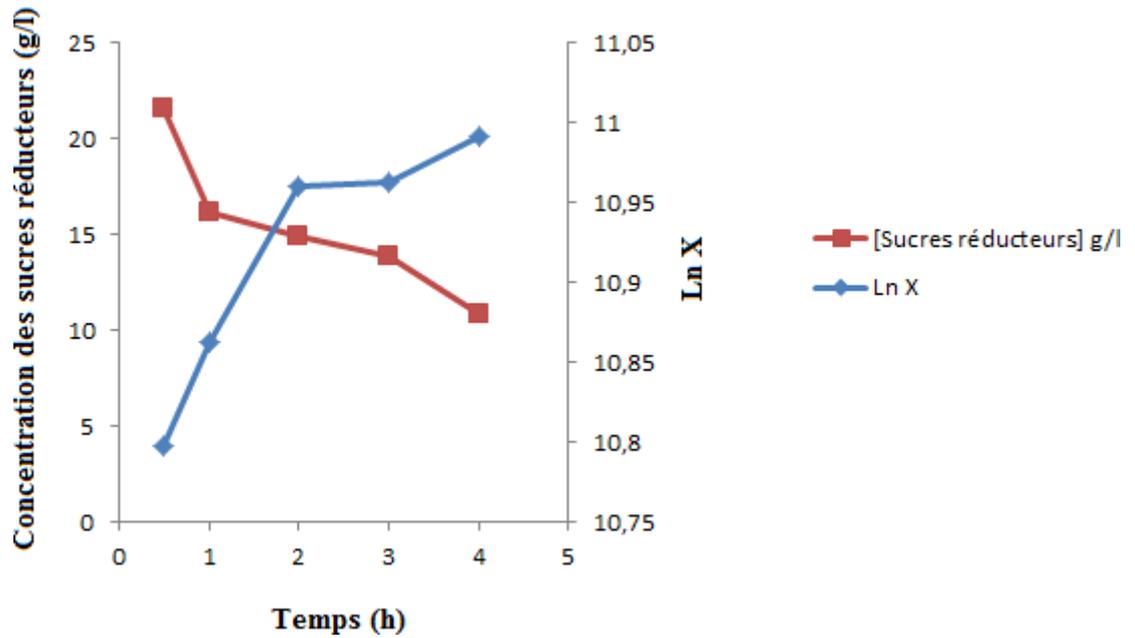


Figure V.9 : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation

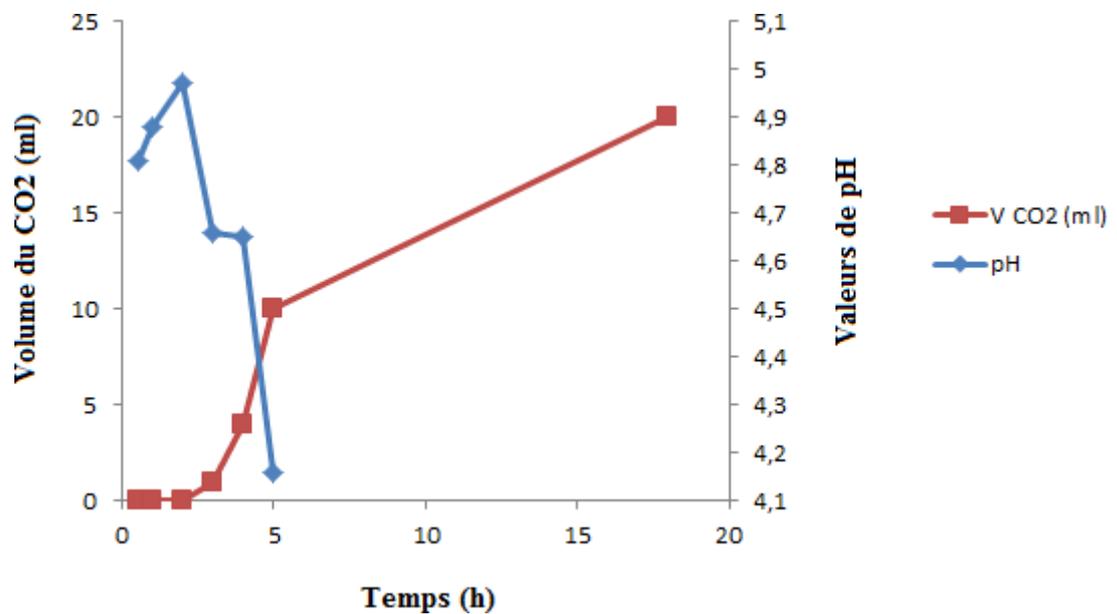


Figure V.10 : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation

La figure V.9 montre une production importante de la biomasse cellulaire (59,37 g/l) par rapport aux autres fermentations (46,17 g/l pour la fermentation n°4) mais cette quantité est inférieure à celle produite lors de la fermentation n°1 (63,66 g/l). Cela signifie que les sucres que contient le cactus ont été métabolisés pour produire de la biomasse. Les résultats montrent, également, que les cladodes d'OFI sont composées de sucres fermentescibles. Ce qui rend possible l'utilisation de cette plante dans la production de bioéthanol et dans d'autres industries. Les travaux de (Sadok et al., 2009) confirment que le mucilage des cladodes d'*Opuntia* est constitué essentiellement de polysaccharides complexes et il peut être utilisé comme additif dans de nombreux produits industriels et alimentaires.

**Tableau V.7 : Paramètres cinétiques de la fermentation n°5**

	$\mu_{\text{exp}} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$t_D \text{ (h)}$	$P_{\text{vhg}} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	$Y_{\text{x,s}} \text{ (g/g)}$
Paramètres cinétiques	<b>0,097</b>	<b>7,11</b>	<b>7,66</b>	<b>0,22</b>

La fermentation n°5 est caractérisée par un taux de croissance de  $0,097 \text{ h}^{-1}$ , un temps de doublement de 7,11 h, une productivité de  $7,66 \text{ g.l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  et un rendement de croissance de 0,22 (g/g). La concentration de l'éthanol obtenu à la fin de cette fermentation est de 53,65 g/l. Si on compare ces résultats avec ceux obtenus dans la fermentation n°1, nous constatons que la levure possède des paramètres cinétiques légèrement proches. Un taux de croissance de  $0,093 \text{ h}^{-1}$  et  $0,097 \text{ h}^{-1}$  pour les fermentations n°4 et n°5, respectivement. Une productivité de  $8,79 \text{ g.l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  pour la fermentation n°4 et de  $7,66 \text{ g.l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  pour la fermentation n°5. Ce qui nous permet de conclure qu'il y a possibilité de fermenter la plante seule sans ajout du saccharose dans le milieu de fermentation. Et pour optimiser les conditions de fermentation et améliorer la productivité, des prétraitements chimiques et hydrolyses enzymatiques peuvent être appliquées sur la plante d'OFI pour dégrader la matrice lignocellulosique et rendre les sucres fermentescibles de la plante accessibles à la levure pour les convertir efficacement en bioéthanol.

Les prétraitements de la plante permettent d'augmenter la teneur des polyphénols, des acides organiques et des concentrations de glucides dans le milieu de fermentation. Ceci est dû aux

Changements de la surface du végétal à cause de la destruction de la cellulose, de l'hémicellulose et de la lignine (Ursachi and Gutt, 2020).

#### IV. Comparaison entre les différentes fermentations réalisées

Les paramètres cinétiques obtenus par la levure cultivée dans différents milieux de fermentation sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau V.8 : Les paramètres cinétiques de la levure obtenus à partir des différents milieux de fermentation**

Paramètres Cinétiques	Fermentation n°1	Fermentation n°2	Fermentation n°3	Fermentation n°4
$\mu_{\text{exp}}$ (h <sup>-1</sup> )	0,093	0,073	0,083	0,089
$t_D$ (h)	7,42	9,49	8,35	7,78
$P_{\text{vhg}}$ (g.l-1h-1)	8,79	10,15	16	22,09
$Y_{X,S}$ (g/g)	0,20	0,105	0,108	0,132

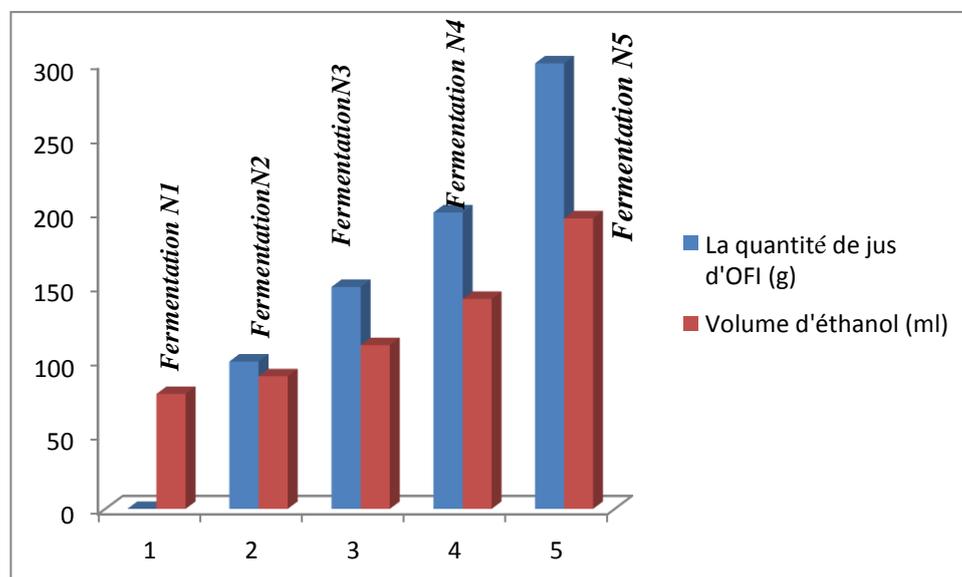
L'évaluation de l'effet de substrat sur la production d'éthanol indique que le milieu de culture à base de saccharose sans le jus des cladodes d'*Opuntia* permet une meilleure production de biomasse exprimée à 63,66 g/l avec une vitesse spécifique de croissance de 0,093h<sup>-1</sup>. Dans ce cas, la levure a métabolisé la source de carbone pour produire de la biomasse. Cependant, la quantité de biomasse produite lors des autres fermentations, dont le milieu de culture est enrichi par jus de cactus, est beaucoup inférieure. Les masses obtenues sont : 24,57 g/l, 35,72 g/l, 46,77 g/l pour les fermentations n°2, n°3 et n°4, respectivement. Nous remarquons aussi que la vitesse spécifique de croissance diminue avec l'ajout de jus de cactus, par contre, la productivité augmente. Ce qui désigne que le métabolisme cellulaire a été orienté beaucoup plus vers la production d'éthanol que vers la production de biomasse dans les milieux de culture qui contiennent le cactus.

La vitesse spécifique de croissance d'une espèce microbienne dépend étroitement de son substrat. Pour cela la cellule présente différents paramètres cinétiques dans les différents milieux de fermentation. Également, le milieu de fermentation à base de saccharose seul possède une source de carbone ou d'énergie simple et facilement accessible à la cellule pour la dégrader. Par contre, les autres milieux se considèrent comme des milieux complexes et les sucres ne sont pas accessibles.

Les résultats suggèrent aussi que le rendement de conversion substrat-biomasse le plus élevé (0,20 g/g) est donné par le milieu de culture de la fermentation n°1. Ce qui confirme que ce dernier milieu est le meilleur pour produire de la biomasse et le milieu de culture qui donne une meilleure productivité en éthanol est celui de la fermentation n°4.

### V. Effet de la plante d'OFI sur la production d'éthanol

Nous remarquons d'après la figure ci-dessous que le volume obtenu à la fin de chaque fermentation augmente avec l'augmentation de la quantité de jus d'*Opuntia* ajoutée dans le milieu de culture.



**Figure V.11 : Les volumes d'éthanol obtenus selon la concentration de jus d'OFI**

Dans le but de confirmer l'effet de jus d'*Opuntia* sur le métabolisme cellulaire et la production d'éthanol, une analyse statistique ANOVA à un facteur a été effectuée par IBM SPSS statistics 26. L'analyse de la variance pour comparer les volumes d'éthanol observés selon la quantité de jus d'OFI et pour vérifier la signification de la régression obtenue à  $p < 0,05$ . Les résultats sont présentés dans la figure V.12.

Nous avons appliqué les tests de normalité et effectivement, les variables suivent une loi normale avec  $P \text{ value} > 0,05$ . Ensuite, nous avons appliqué le test de corrélation et le résultat se présente dans le tableau suivant.

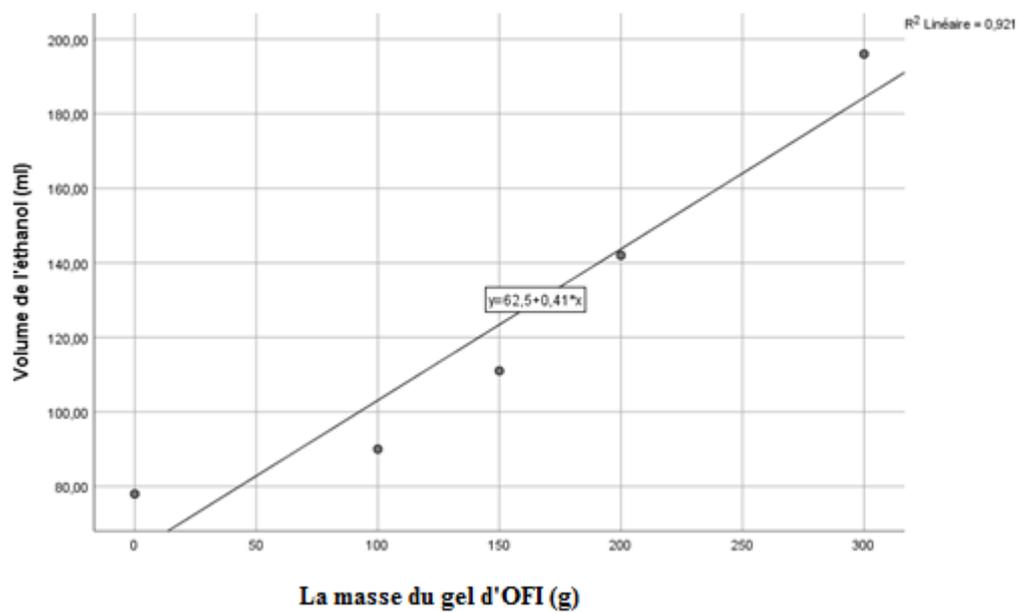
**Tableau V.9 : tableau de corrélation obtenu entre les deux variables étudiés (le volume d'éthanol en fonction de la quantité de jus d'OFI)**

		Corrélations	
Masse			Volume
Masse	Corrélation de Pearson	1	,960**
	Sig. (bilatérale)		,010
	N	5	5
Volume	Corrélation de Pearson	,960**	1
	Sig. (bilatérale)	,010	
	N	5	5

\*\* . La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

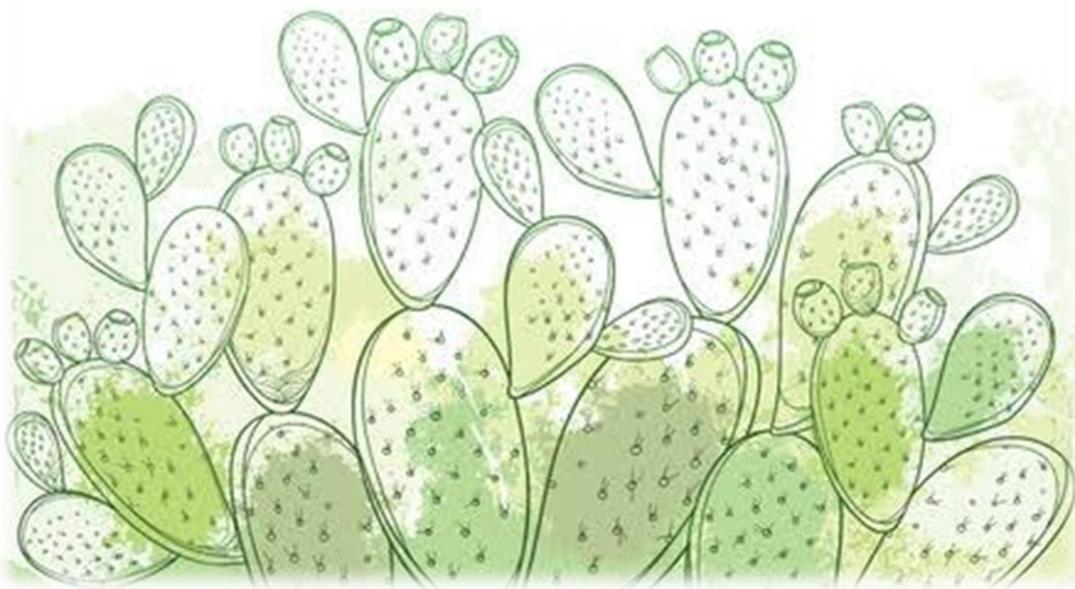
A la lecture du tableau, nous constatons qu'il existe une corrélation significative au niveau 0,01 c'est-à-dire cette corrélation est hautement significative ( $P < 0,01$ ). Il est à noter aussi que la relation entre les volumes d'éthanol obtenus à la fin de chaque fermentation et les quantités de jus d'OFI ajoutées dans le milieu de fermentation est très forte et proportionnelle avec  $R^2 = 0,921$  (Figure V.12). Cette régression est très significative ( $P < 0,01$ ) avec très bonne régression ( $r > 0,90$ ). Ce résultat suggère que le milieu de culture enrichi avec le cactus est très efficace pour améliorer la production de l'éthanol.

L'augmentation du volume total de l'éthanol produit par *S. cerevisiae* pourrait être expliquée par la richesse de la plante *Opuntia* en substances nutritives pour la levure. Il s'agit d'une excellente source d'oligoéléments naturels à savoir : calcium, potassium, magnésium, phosphore, sodium, fer, cuivre, zinc et manganèse (Sadok et al, 2008). De plus, selon les mêmes auteurs, les cladodes d'*Opuntia* contiennent de vitamines, polyphénols, fibres, sucres totaux et réducteurs selon le stade de croissance. Tous ces composants peuvent augmenter la performance du microorganisme à produire de l'éthanol. D'autres chercheurs mentionnent que les micro-organismes se développent efficacement dans les milieux complexes, grâce à la présence des composants qui peuvent être utilisés comme précurseurs dans les voies métaboliques (Pérez-Cadena et al, 2018).



*Figure V.12 : Corrélation linéaire entre les volumes d'éthanol obtenus et les quantités de jus d'OFI ajoutées dans chaque milieu de fermentation*

## *CONCLUSION*



### *Conclusion*

En Algérie, *O. ficus-indica* est la plante la plus répandue des cactus. Elle s'adapte aux conditions écologiques et biologiques de ce pays telles que la sécheresse et l'aridité. On peut utiliser cette plante magique comme une alternative pour le développement durable, par sa fermentation en bioéthanol. C'est une meilleure façon de la valoriser, parce qu'on donne un grand intérêt aux biocarburants en raison des coûts élevés des énergies conventionnelles et aux problèmes environnementaux.

Le but de notre travail est l'optimisation de la production de bioéthanol à partir de sous-produit : le cactus.

Nous avons réalisé une série de fermentations à base de différents milieux de culture qui sont composés du saccharose enrichis avec différentes quantités de jus de cactus, pour montrer l'effet de ce dernier. Les résultats dévoilent que le meilleur rendement obtenu (196 ml) est donné par un milieu de culture enrichi par 300 ml de cactus avec une productivité de 22,09 g.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>. Aussi, nous avons remarqué que le rendement augmente avec l'augmentation de la quantité de jus de cactus ajouté. Et l'analyse statistique ANOVA à un facteur a confirmé qu'il existe une corrélation hautement significative ( $P < 0,01$ ) entre les volumes d'éthanol obtenus à la fin de chaque fermentation et les quantités de jus d'OFI ajoutées dans le milieu de fermentation. De plus, cette relation est très forte et proportionnelle avec  $R^2 = 0,921$ . C'est une régression très significative ( $P < 0,01$ ) avec très bonne régression ( $r > 0,90$ ). Ce qui nous permet de conclure que le milieu de culture enrichi avec le cactus est très efficace pour améliorer la production de l'éthanol.

Nous avons obtenu aussi un volume de 68 ml avec une productivité de de 7,66 g.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> en utilisant un milieu de culture composé du cactus seul. Ce qui qualifie cette ressource végétale dans la production du bioéthanol de deuxième génération et dans d'autres industries alimentaires. Donc il y a une possibilité de fermenter la plante seule sans ajout du saccharose dans le milieu de fermentation. Sachant que Les cladodes d'OFI représentent un bonne source des sucres fermentescibles, et pour améliorer ce procédé de fermentation des méthodes de prétraitements et d'hydrolyses enzymatique peuvent être appliquées sur la plante d'OFI.

Comme perspectives, il serait intéressant de :

## Conclusion

---

- + L'utilisation des différents types de hydrolyse (enzymatique, chimique, électrochimique).
- + Une meilleure agitation au cours de la fermentation.
- + La récolte et l'utilisation des cladodes jeunes.
- + Ajout de base au cours de la fermentation pour ajuster le pH et éviter l'inhibition de l'activité cellulaire.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



## *Références bibliographiques*

1. **Abdel-Hameed El-Sayed S., Mohamed A. Nagaty, Mahmood S. Salman, Salih A. Bazaid. (2014).** Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chemistry* 160 (2014) 31–38.
2. **Adli B, Boutekrabt A., Touati M., Bakria T., Touati A., Bezini E. (2017).** Phenotypic diversity of *Opuntia ficus indica* (L.) MILL. In the Algerian steppe. *South African Journal of Botany* 109 (2017) 66-74.
3. **Adouane Selma. (2015).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès, Mémoire Magistère, Université Mohamed Khider – Biskra.
4. **Adjeroud Nawel a, Salma Agab a, Farid Choulak a, Yasmina Hammoui a, b, Belkacem Merzouk c, Khodir Madani a. (2018).** Conventional and Ultrasounds assisted Extraction of a natural coagulant aid: Mucilage of an agricultural by-product, a Laboratoire de Biomathématiques, Biophysique, Biochimie, et Scientométrie (L3BS), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algérie b Laboratoire de Biomathématiques, Biophysique, Biochimie, et Scientométrie (L3BS), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algeria c Département Hydraulique, Faculté de Technologie, Université de M’sila, B.P. 166, Ichbilila, M’sila, 28000, Algérie.
5. **Aguirre Joya Jorge, De La Garza Toledo Heliodoro, Zugasti Cruz Alejandro, Belmares Cerda Ruth, Aguilar Cristobal Noé. (2013).**The optimization of phenolic compounds extraction from cactus pear (*Opuntia ficus indica*) skin in a reflux system using response surface methodology. *Asian Pac J Trop Biomed*; 3 (6) 436-442.
6. **Aisaoui Amira et Kessouri Khadidja. (2021).** Production de l'éthanol par fermentation. Mémoire de Master. UAMO, Bouira.
7. **Althuri et al. (2018).** Simultaneous Saccharification and Fermentation of Lignocellulosic Biomass.
8. **Al Daccache Marina. (2019).** Étude du potentiel fermentaire de la pomme libanaise et impact des procédés émergents sur la fermentation du jus en vue de l'élaboration du cidre, L'université De Technologie De Compiègne, Spécialité : Génie Des Procédés Industriels Et

9. **Anglani C (1998)**. Sorghum Carbohydrates - A Rev. Plant Food Humannutr. 52: 77-83.
10. **Anonyme.** (1993). Table de composition des fruits exotiques. Dans Répertoire général des Aliments. Pp.122- 124.
11. **Arba M. (2009)**. Le cactus opuntia, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc, Laboratoire d'Ecophysiologie Végétale, Département d'Horticulture Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II, Complexe Horticole d'Agadi E-mail: [arbamohamed@yahoo.fr](mailto:arbamohamed@yahoo.fr).
12. **Attou Amina. (2011)**. Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante Rutachalepensis (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent, Mémoire de Magister.
13. **Benkaddoure Abderrahim (2011)**. Etude Huile essentielles de l'Opuntia Ficus Indica Région Mascara, Université d'Oran Faculté de Science Département de Chimie laboratoire de synthés organique appliquée, 08 Décembre.
14. **BERBER Nadia. (2017)**. Caractérisation biomoléculaire et biotechnologique des souches de « Saccharomyces cerevisiae » issues des cépages Algériens, THÈSE PRESENTÉE POUR L'OBTENTION DE DIPLOME DE DOCTORAT 3ème cycle.
15. **Bouix M., Leveau J.Y. (1991)**. Les levures Ds: Bourgeois C.M., Leveau Y.J.
16. **Boulal A. (2017)**. Contribution A L'étude De La Microflore Des Dattes Conservées Par Des Méthodes Traditionnelles (Btana), Et Valorisation Des Dattes De Faible Valeur Marchande Soutenue : Thèse De Doctorat. Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. Soutenue Le 28 Juin 2017: Pp, 1-106.
17. **Burillard Lucile, Vincent Daumas, Margot Glaz, Lolita Kouyoumdjian, Simon Lobrot, Diane Logier, Noémie Mallot.(2016)**. Clémence Marchand, Les fermentations alimentaires, Frédéric Borges.
18. **Buruiană Et Al.( 2013)**. / AUDJG – Food Technology 37(1) 25-38 .Bioethanol Production From Residual Lignocellulosic Materials: A Review – Part 2.
19. **Canilha et al .(2012)**.Bioconversion of Sugarcane Biomass into Ethanol , Hindawi

Publishing Corporation Journal of Biomedicine and Biotechnology ,Volume 2012, Article ID 989572, 15 pages .

20. **Chen SF, Mowery RA, Scarlata CJ, Chambliss CK. (2007).** Compositional Analysis Of Water-Soluble Materials In Corn Stover. J Agri Food Chem 55: 5912-5918.
21. **Chillet Pascal. (2011).** Opérations unitaires en génie biologique. La fermentation. Centre régionale de documentation pédagogique d'Aquitaine.
22. **Chniti Sofien. (2015).**Optimisation de la bio production d'éthanol par valorisation des refus de l'industrie de conditionnement des dattes. Autre. Université Rennes 1. Français. ffNNT : 2015REN1S118ff. fftel-01558761.
23. **Dalgaard T, Jorgensen U, Olesen JE, Jensen ES, Kristensen ES. (2006).** Looking At Biofuels and Bioenergy. Science. 312: 1743-11743.
24. **Damien Hudebine. (2014).**Les Biocarburants En France Et En Europe.
25. **Dehak D. K. (2013).** Méthode d'extraction et de séparation des substances naturelles, Doctorat, Université de Ouargla, Algérie).
26. **Didderen I, Destain J. ET Thonart P. (2008).** Le bioethanol de seconde génération. La production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. Les presses agronomiques de gembloux, A.S.B.L.
27. **Djillali S. (2018).** Préparation d'une pâte de dentifrice. Mémoire de master. UAMO, Bouira.
28. **Habibi Youssef. (2004).**Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie. Les polysaccharides pariétaux: caractérisation et modification chimique. Autre. Université Joseph-Fourier - Grenoble. Français. fftel00006273f.
29. **Hadj-Larbi Khadidja. (2012).** Etude rhéologique et bactéricide d'une pâte de dentifrice base de siwak, Mémoire de Magister, Université M'hamed Bougara-Boumerdès.
30. **Institut National De Recherche Et De Sécurité (INRS),** Éthanol, (Fiche Toxicologique N°48).
31. **Kumar Singh Et Gaurav Chaudhary. (2017).** Advances In Biofeedstocks And Biofuels, Volume Two: Production Technologies For Biofuels.

32. **Larpent J.P. (1991).** Biotechnologie des levures. Ed. Masson. Paris. P : 266-373.
33. **Larpent-Gourgaud M. et Sanglier J-J. (1992).** Biotechnologie. Principes et méthodes. Ed. DOIN. Paris. P : 569.
34. **Leveau J. Y. and Bouix M. (1980).** Microbiologie industrielle. Les microorganismes d'intérêt industriel. 612. Lavoisier Tec & Doc Apria, Paris.
35. **Mostefaoui et Sefouane. (2015).** L'Effet antibactérien des polyphénols extraits à partir des plantes. Mémoire de master. UAMO, Bouira.
36. **Oucif K., Mohammed T.(2017).** Mise En Valeur Des Dérivés De Dattes De La Région d'Oued Souf Pour La Production De Bioéthanol. Thèse De Doctorat. Université Kasdi merbah Ouargla. Soutenue Le: 16/05/2017 :1-81p.
37. **Perrin.R, Scharff.J.P (2005).** Les Biocarburants En France Et En Europe; Chimie industrielle; Lyon.
38. **Petruka Ganna, Di Lorenzoo Flaviana, Imbimbo Paola, Silipo Alba, Bonina Andrea, Rizza Luisa, Piccoli Renata, Montia Daria Mari, LanzettaRosa. (2017).** Protective effect of *Opuntia ficus-indica* L. cladodes against UVA-induced oxidative stress in normal humankeratinocytes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.10.043>.
39. **Pérez-Cadena Rogelio, Teodoro Espinosa Solares, Sergio Alejandro Medina-Moreno, Alfredo Martínez, Manuel Alejandro Lizardi-Jiménez, Alejandro Téllez-Jurado, Atlixco. (2018).** Production of Ethanol by Three Yeasts in Defined Media and Hydrolyzed Cladodes of *Opuntia ficus-indica* var. *International Journal of Agriculture and Forestry*, 8(1): 26-34 DOI.
40. **Pol D. (1996).** Travaux pratiques de biologie des levures. Edition marketing, 158. P: 21-56.
41. **Pommier, S (2003).** Dynamique de populations microbiennes en cultures mixtes : étude expérimentale en bioréacteur à membranes et modélisation du phénomène killer chez *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse. France.
42. **Poupon, J.E. (1975).** Cactus et ressources fourragères. Dans Amélioration et aménagement des parcours forestiers. MAMVA.

43. **Razafindralambo Faniry, Brickaville. (2008).** Etude De Faisabilite Technico Economique De L'installation D'une Unite De Production d' Ethanol D'ignames (Dioscoréaalata ) A Promotion Ilo (2003-2008), 2008, Universite D'antanarivo Ecole Superieure Des Sciences Agronomiques Département Des Industries Agricoles Et Alimentaires.
44. **Rezki-bekki, M. (2014).** Production de métabolites par les levures : caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse de doctorat. Université d'Oran. Soutenue le 14/04/2014: Pp, 114.
45. **SADI Meriem. (2012).**Le Bioéthanol : Une Véritable Alternative Pour Une Energie Propre Division Bioénergie Et Environnement.
46. **Sadok Hadj T., Aid F., Bellal M., Maria Stela Abdul Hussain ( 2008).** Composition Chimique Des Jeunes Cladodes d'opuntia Ficus Indica Et Possibilites De valorisation Alimentaire. Gricultura – StiinŃă si practică nr. 1-2 (65-66)/ 2008.
47. **Sadok Hadj T . , F.Z. Chaouch, A. Boutekrabt. (2009).** Composition and effects of opuntia ficus indica cladodes juice on lacticbacteriagrowth and yoghurt acidification , Université Saad Dahlab - Faculté des sciences agrovétérinaires – Département Agronomie, 88-89.
48. **Scriban R. (1999).** Biotechnologie. Tech, & Doc, Paris.
49. **Smida A., Ncibi S., Taleb J., Ben Saad A., Ncib S., Zourgui L.(2017).** Immunoprotective activity and antioxidant properties of cactus (Opuntia ficus indica) extract against chlorpyrifos toxicity in rats. Biomedicine and Pharmacotherapy, 88 (2017) 844-851.
50. **Subramanian, K.A. (2018).** Biofueled Reciprocating Internal Combustion Engines.
51. **Ursachi Vasile-Florin and Gheorghe Gutt Gheorghe. (2020).** Production of Cellulosic Ethanol from Enzymatically Hydrolysed Wheat Straws. Appl. Sci. 2020, 10, 7638.
52. **Wyman CE. (1999).** Biomass Ethanol: Technical Progress, Opportunities And Commercial Challenges. Annu Rev Energy Environ 24: 189-226.
53. **Zha Y., J.A. Westerhuis, B. Muilwijk, K.M. Overkamp, B.M. Nijmeijer, L. Coulier, A.K. Smilde, And P.J. Punt.(2014) .**“Identifying Inhibitory Compounds In Lignocellulosic Biomass Hydrolysates Using An Exometabolomics Approach”, BMC Biotechnology, Vol. 14.

54. **Zidani.S. (2009).** « influence des techniques de séchage sur la solubilité des protéines de la levure *Saccharomyces cerevisiae* » ;thèse de magister ; Université El hadj Lakhdar Batna.