

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

**AISSAOUI Amira**  
**KESSOURI Khadidja**

Pour l'obtention du diplôme de

## MASTER

Filière : Génie des Procédés  
Spécialité : Génie d'environnement

### Production de l'éthanol par fermentation

Soutenu le 30 /07/ 2021

Devant le jury :

Mme ZIANI S.	MCB	UAMOB	Examineur
Mr. KERNANI R.	MCB	UAMOB	Examineur
Mme ARBIA L.	MCB	UAMOB	Encadrant

Année Universitaire : 2020/2021

# *Dédicaces*

*À L'aide De Allah J'ai Pu Réaliser Ce Modeste Travail Que Je Dédie:*

*À mes très chers parents (Djamila et Mohammed) qui m'ont entourée, tout au long de ma vie, de leur soutien et dont les sacrifices qu'ils ont consentis m'ont permis d'atteindre ce niveau*

*À mes frères (Amine, Hamid, M'Hamed, Kheir Eddine, Mondher) et ma sœur (Salima) pour leurs soutiens.*

*À mon cher époux (Bessaleh Mourad) et sa famille.*

*À mes fils et mes neveux (Adam, Alaa, Baraa, Roaia, Ilyas)*

*À toute ma famille (Kessouri et Remilli) et mes enseignants.*

*À mon encadreuse et aux membres de jury*

*À toutes mes amies pour le grand aide.*

*À tous mes amis de génie des procédés.*

*À ma binôme (Amira) et à tous ce qui ont participé dans L'établissement de ce mémoire.*

*À toute la promotion Génie de l'environnement, je souhaite une bonne continuation dans votre vie personnelle et professionnelle*

*Khadidja kessouri*

# Dédicaces

À mes très chers parents (souad et Rachid) ;

*Affables, honorables, aimables : vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vos prières et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

## **LOUBNA , LAMIS ET FAIZA**

*Mes chères soeurs qui m'ont été le support dans la vie, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes voeux de bonheur, de santé et de réussite.*

## **AIMEN;**

*Mon cher frère , 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 voeux de bonheur,*

*de santé et de réussite*

## **LAICHE MONAIM ;**

À mon cher époux et sa famille.

À toute ma famille (**AISSAOUI, RAHICHE**) et mes enseignants.

À mon neveu (**BOURKAJABE IYADE**)

À mon encadreuse et aux membres de jury

À ma binôme (**Khadija**) et à tous ce qui ont participé dans  
*L'établissement de ce mémoire.*

À toute la promotion Génie de l'environnement, je souhaite une bonne continuation dans  
votre vie personnelle et professionnelle

**Aissaoui Amira**



## *Remerciements*

الحمد لله رب العالمين

**Tout d'abord, je remercie Allah de m'avoir donné la vie et le pouvoir de faire ce travail. Louez Allah, le Dieu tout-puissant, compatissant et compatissant pour m'avoir donné la santé, l'énergie et la volonté dont j'ai besoin pour étudier et faire des recherches. Le travail de mémoire est le résultat d'un travail collectif. Je tiens à remercier tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.**

Nos remerciements particuliers à notre encadreur, Madame Arbia Leila, maître de conférences B à l'Université Akli Mohand Oulhadj Bouira. Pour nous avoir donné l'occasion de réaliser ce travail sous sa direction, pour son amabilité, sa gentillesse, pour son soutien continu. Nous ne trouverons jamais les mots les plus appropriés pour exprimer la reconnaissance que nous lui portons pour tous ses précieux conseils, pour ses encouragements et pour toutes les fois qu'elle a trouvé le temps nécessaire pour nous écouter.

Nous remercions infiniment les examinateurs, madame S. Ziani et monsieur R. Kernani, de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Nous remercions également tous les ingénieurs de laboratoire qui nous ont accompagnés tout au long de notre travail au laboratoire. Nos remerciements vont également à tous les enseignants et tous les responsables du département de génie des procédés.

A toute personne ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leur soutien et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.

Merci également à tous ceux qui, un jour ou l'autre, nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.

## *Liste des tableaux*

Tableau I.1 : Quelques caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol .....	4
Tableau I.2 : Les trois générations de bioéthanol.....	6
Tableau I.3 : Pays africains producteurs de bioéthanol en Afrique.....	8
Tableau I.4 : Avantages et les inconvénients du bioéthanol.....	9
Tableau II.1 : Avantages et inconvénients des différentes ressources de biomasse.....	14
Tableau II.2 : Différents procédés de prétraitement de la biomasse.....	15
Tableau II.3 : Les éléments nutritifs consommés par le (saccharomyce <i>Cerevisiae</i> ) lors de son métabolisme fermentaire.....	20
Tableau III.1 : Matériel et appareils utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol.....	22
Tableau III.2 : Conditions de croissance de la levure <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> .....	23
Tableau IV.1 : Propriétés physicochimiques des betteraves.....	43
Tableau IV.2 : Propriétés physicochimiques des cladodes <i>d'Opuntia ficus-indica</i> .....	44
Tableau IV.3 : Propriétés physicochimiques des dattes.....	45
Tableau IV.4 : Propriétés phytochimiques des dattes, betterave, Cladodes <i>d'Opuntia</i> <i>Ficus-indica</i> .....	46

## *Liste des figures*

Figure I.1 : Procédé de production de bioéthanol.....	4
Figure I.2 : Distribution de la production mondiale de bioéthanol (2006) .....	7
Figure I.3 : Domaines d'utilisation du bioéthanol.....	10
Figure II.1 : Ressources de biomasse utilisées pour la fabrication de biocarburants.....	13
Figure II.2: La structure morphologique et les constituants de la levure type ( <i>saccharomyces cerevisiae</i> ) .....	18
Figure II.3 : Les phases de la croissance bactérienne en mode discontinu.....	19
Figure III.1 : Matériel végétal utilisé comme matière première pour produire du bioéthanol.....	24
Figure III.2 : Mélange de dattes placé dans un bain Marie.....	37
Figure III.3 : Filtration du jus avec une compresse.....	38
Figure III.4 : Filtration du jus avec une compresse.....	39
Figure III.5 : Dispositif expérimental de la fermentation alcoolique.....	40
Figure III.6 : Montage de Distillation du mélange.....	41
Figure IV.1 : Evolution du volume du CO <sub>2</sub> , de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation.....	48
Figure IV.2 : Evolution du pH en fonction du temps de la fermentation.....	50
Figure IV.3 : Evolution de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation.....	51
Figure IV.4 : Evolution du volume du CO <sub>2</sub> , de la biomasse en fonction du temps de la fermentation.....	52
Figure IV.5 : Evolution de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation.....	53
Figure IV.6 : Evolution de la concentration en sucres réducteurs et du volume de CO <sub>2</sub> en fonction du temps de la fermentation.....	54
Figure IV.7 : Evolution du volume de CO <sub>2</sub> en fonction du temps de la fermentation.....	54
Figure IV.8 : Evolution des valeurs de pH en fonction du temps de la fermentation.....	55
Figure IV.9 : Evolution de la concentration en sucres réducteurs et du volume de CO <sub>2</sub> en fonction du temps de la fermentation.....	56
Figure IV.10 : Evolution du volume de CO <sub>2</sub> en fonction du temps de la fermentation...	56
Figure IV.11 : Le volume total d'éthanol obtenu à la fin de la fermentation des différentes plantes utilisées.....	58

Figure IV.12 : Le volume total d'éthanol obtenu des différentes fermentations du  
saccharose..... 59

## *Liste des sigles et abréviations*

ETBE : **E**thyle **T**ertio **B**utyle **E**ther

NAD<sup>+</sup>: **N**icotinamide **A**dénine **D**i nucléotide, forme oxydée

NADH: **N**icotinamide **A**dénine **D**i nucléotide, forme réduite

ATP: **A**dénosine **T**ri**P**hosphate

# *Sommaire*

# Sommaire

<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Généralités sur la production de bioéthanol</b>	
I.1 introduction.....	3
I.1. Définition du bioéthanol:.....	3
I.2. Générations de bioéthanol .....	4
A. Le bioéthanol de première génération.....	5
B. Le bioéthanol de deuxième génération.....	5
C. Le bioéthanol de troisième génération.....	5
I.3. Comparaison entre les trois générations.....	6
I.4.1. Projets de production de bioéthanol à l'échelle mondiale.....	6
I.4.2. Projets de production de bioéthanol à l'échelle continentale.....	8
I.4.3. Projets de production de bioéthanol à l'échelle nationale .....	8
I.5 Les avantages et les inconvénients du bioéthanol.....	9
I.6. Domaines d'utilisation du bioéthanol.....	10
I.7 Conclusion.....	10
<b>Chapitre II : Méthodologies d'extraction de biomasse</b>	
II.1 Introduction .....	11
II.2. Energie de biomasse .....	11
II.2.1. Définition de la biomasse.....	11
II.2.2. Définition de la biomasse végétale.....	11
II.2.3. Composition de la biomasse.....	12
II.2.4. Ressources de biomasse.....	12
II.2.5. Avantages et inconvénients de la biomasse.....	13
II.2.6. Prétraitement de biomasse.....	14
II.3. Production du bioéthanol.....	15

II.3.1. Hydrolyse.....	16
A. L'hydrolyse chimique.....	16
B. L'hydrolyse enzymatique.....	16
II.3.2. La fermentation alcoolique.....	16
II.4. Les caractéristiques de la levure boulangère type « <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	17
II.4. 1. Définition de la levure boulangère type ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) .....	17
II.4.2. Rôle de la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	17
a) Morphologie et Structure.....	17
II.4.3. Croissance microbienne.....	18
A. La phase de latence.....	18
B. La phase exponentielle de croissance.....	18
C. La phase stationnaire.....	19
D. La phase de déclin.....	19
II. 4.4. Conditions de culture.....	19
II. 4.5. Influence des paramètres environnementaux sur le métabolisme de la levure.....	21
II.4.5.1 Influence du pH.....	21
II.4.5.2 Influence de la température.....	21
II.4.5.3. Influence de l'éthanol.....	21
II.4.5.4. Influence de l'oxygène.....	21
II. 4.5.5. Influence du substrat :.....	21
<b>Chapitre III : matériel et méthodes</b>	
III.1. Introduction.....	22
III.2. Matériel.....	22
III.2.1. Matériel biologique « <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ».....	23
III.2.2. Matériel végétal « Betterave, dattes et cactus ».....	23
a) La betterave.....	23
b) Les dattes.....	23
c) le cactus .....	24
III.3. Analyses physiques des fruits (datte, betterave, cactus) :.....	24
III.3.1. Aspect des fruits.....	24
III.4. Analyses chimiques des fruits.....	25
III.4.1.Le PH.....	25
III. 4.2. La solubilité.....	25

III.4.3. La dessiccation.....	25
III.4.4. La teneur en eau.....	25
III.4.5. La teneur en matière sèche.....	26
III.4.6. Détermination de la teneur en cendres totales .....	27
III.4.7. La teneur en cendre sulfurique.....	28
III.4.8. La teneur en cendres chlorhydriques.....	28
III.4.9. L'indice de gonflement.....	28
III.5. Étude photochimique.....	30
III.5.1. La recherche de polyphonies totales.....	30
III.5.1.1. Tanins.....	30
III.5.1.2. Tanins hydrolysables (galliques).....	31
III.5.2. Les flavonoïdes.....	32
III.5.2.1. Anthocyane.....	32
III.5.3. Réaction cyanhydrique.....	33
III.5.4. Détermination des glucosides.....	34
III.5.5. Détermination des saponines.....	34
III.5.6. Détermination des hétérosides cardiotoniques.....	35
III.5.7. Les éléments réducteurs.....	36
III.5.8. Détermination du mucilage.....	36
III.5.8.1. Les coumarines.....	37
III.6. Protocole de préparations du jus (substrats).....	37
III.6.1. Protocole de l'extraction du jus de datte.....	37
III.6.2. Protocole1 de l'extraction de jus de betterave.....	38
III.6.3. Protocole de l'extraction de jus de cactus.....	38
III.6.4. Protocole de l'extraction de jus de saccharose.....	39
III.7. Procédé de fermentation éthanolique.....	39
III.7.1. Protocole de la fermentation alcoolique.....	39
III.7.2. Distillation du mélange-Récupération du bioéthanol.....	40
III.7. Techniques analytiques et aspect du substrat.....	41
III.8.1. Aspect du substrat.....	41
III.8.2. Mesure du pH.....	41
III.8.3. Dosage des sucres totaux.....	41
III.8.4. Mesure de la pression du CO <sub>2</sub> .....	41

## Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Introduction.....	43
IV.2. Caractérisation physicochimique du matériel végétal utilisé comme matière première.....	43
a) Les Betterave.....	43
b) Les Cladodes <i>d'Opuntia ficus-indica</i> .....	44
c) Les dattes.....	45
IV .3. Etude phytochimique du matériel végétal utilisé .....	46
IV .4. Fermentation alcoolique.....	47
IV.4.1. Détermination des paramètres de croissance.....	47
IV .4.2. Fermentation des betteraves.....	48
IV .4.2.1. Cinétique de l'évolution de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , du volume de CO <sub>2</sub> et de la concentration en sucres au cours de la fermentation.....	48
IV.4.2.2.Cinétique de l'évolution de pH au cours de la fermentation.....	50
IV .4.3. Fermentation des cladodes <i>d'Opuntia ficus-indica</i> .....	50
IV .4.3.1. Cinétique de l'évolution de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> et de la concentration en sucres au cours de la fermentation.....	50
IV .4.3.2. Cinétique de l'évolution de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> et du volume de CO <sub>2</sub> au cours de la fermentation.....	51
IV .4.3.3. Cinétique de l'évolution de pH au cours de la fermentation.....	52
IV .4.4. Fermentation des dattes.....	53
IV .4.4.1. Cinétique de l'évolution du volume de CO <sub>2</sub> et de la concentration des sucres au cours de la fermentation.....	53
IV .4.4.2. Cinétique de l'évolution de pH au cours de la fermentation.....	55
IV .4.5. Fermentation du saccharose.....	55
IV .4.5.1. Cinétique de l'évolution du volume de CO <sub>2</sub> et de la concentration des sucres au cours de la fermentation.....	55
IV.4.6 : Comparaison entre les différentes fermentations étudiées.....	57
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>60</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>62</b>



# *Introduction générale*

## Introduction Générale

La protection de l'environnement nécessite de réduire les émissions de gaz à effet de serre et l'accroissement de l'indépendance énergétique. Pour cela, le monde est résolument engagé dans la promotion des énergies renouvelables, et plus particulièrement, des biocarburants [1].

Le bioéthanol est considéré, aujourd'hui, comme le principal biocarburant d'un développement industriel impressionnant. Sa production dans le monde en 2000 a atteint 38 milliards de litre par an [2].

Cependant, la production et l'utilisation de ces biocarburants ont donné le jour à de nombreuses critiques puisqu'ils entrent en concurrence directe avec la chaîne alimentaire. Ils sont produits à partir de matières premières qui peuvent être utilisées dans une chaîne alimentaire animale ou humaine [3].

Selon les statistiques du RFA, 2011 (Renewable Fuels Association), les deux premiers producteurs de bioéthanol, en l'occurrence : les Etats Unis et le Brésil ont atteint en 2011, une production de 51 milliards de litres (48%) et de 29 milliards de litres (27%), respectivement. Sa production est réduite à 0.2% dans le continent Africain et 5.2% en Europe. Le développement des biocarburants vise à diminuer les émissions de CO<sub>2</sub>, à réduire la dépendance pétrolière et à valoriser des ressources agricoles et forestières nationales [1].

Il existe une très grande variété de substrats qui peuvent être utilisés comme matière première pour la production d'éthanol. Le choix est basé sur le coût et la rentabilité du procédé. Parmi ces substrats, l'inuline qui est un polysaccharide particulièrement abondant dans les racines de l'artichaut, de la chicorée, des topinambours ou des oignons de dahlias [4].

De multiples microorganismes produisent de l'éthanol à partir de polysaccharides [6]. Cependant, plusieurs facteurs peuvent être pris en considération pour obtenir un meilleur rendement. Ces facteurs sont : La capacité fermentaire, la tolérance à l'éthanol élevée et l'adaptation aux conditions de fermentation [7].

L'objectif de ce travail est d'exploiter des produits d'agriculture en vue de produire du bioéthanol. Nous avons donc opté pour les betteraves, les dattes algériennes, le cactus et le saccharose pour pouvoir comparer les différents résultats obtenus.

Le présent travail englobe quatre chapitres :

Le premier chapitre de ce manuscrit est consacré à une étude bibliographique contenant des généralités sur la production de l'éthanol. Il présente également la comparaison entre les trois générations d'éthanol, les avantages et les inconvénients du bioéthanol, les voies de production et les différents domaines d'utilisation.

Dans le deuxième chapitre, nous décrivons les prétraitements de la biomasse végétale nécessaire pour une hydrolyse facile des sucres complexes. Nous passons, ensuite, à décrire les étapes du processus de fermentation alcoolique et la purification de l'éthanol produit.

Le troisième chapitre présente les méthodes et le matériel utilisés dans le présent projet. Enfin, le quatrième chapitre est dédié à la présentation de tous les résultats obtenus lors de cette étude. Des courbes et des tableaux de résultats sont adéquatement mis en valeur accompagnés d'interprétations et de discussions.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale suivie de quelques perspectives pouvant être bénéfiques à un travail ultérieur.

# *CHAPITRE I*

## *Généralités sur la production de bioéthanol*

## **I. Introduction**

L'abus de l'utilisation de combustibles a causé l'accumulation de gaz à effet de serre dans l'environnement qui a dépassé le seuil considéré « dangereusement élever » et qui est de 450 ppm équivalent CO<sub>2</sub>. Pour cela, il est nécessaire de trouver des alternatives renouvelables, durables et économiquement viables : les biocarburants. Ces derniers se réfèrent aux carburants obtenus à partir de sources biologiques renouvelables et qui peuvent être utilisés pour le chauffage, l'éclairage et le transport [8].

Les bioénergies présentent une voie prometteuse pour les énergies renouvelables et une réelle opportunité pour répondre à nos besoins énergétiques [9].

Le bioéthanol qui appartient à cette famille d'énergies renouvelables, serait un bon substitut aux énergies fossiles s'il peut être produit conformément aux données industrielles et économiques exigées par les populations et sociétés contemporaines [9].

### **I.1 Définition du bioéthanol**

Le bioéthanol, une sorte d'énergie de biomasse, est une ressource renouvelable considérée comme une alternative aux combustibles fossiles. Sa production traditionnelle est basée principalement sur des sucres. Mais ceci entraîne une concurrence entre les sources d'énergie alimentaire et la biomasse. De ce fait, l'utilisation des matériaux lignocellulosique est choisie pour la production d'éthanol en raison de leur disponibilité et de leur coût relativement faible [10].

La fermentation du sucre, provenant des cultures sucrières (canne à sucre, betteraves, blé), ou provenant des cultures contenant de l'amidon (graines), conduit à la production d'éthanol.

L'amidon est une longue chaîne de polymère de glucose. Il doit d'abord être dégradé en monomères de glucose puis fermenté. L'hydrolyse de l'amidon s'effectue par une enzyme appelée amylase (enzyme digestive). Les produits issus de la fermentation de l'amidon sont l'éthanol et le dioxyde de carbone. La transformation des monomères de glucose est réalisée par des levures telles que *Saccharomyces*. En théorie 51% du glucose est convertie en éthanol, le reste est utilisé par la levure comme source d'énergie ce qui diminue l'efficacité de 40 à 48% [11].

Le Tableau I.1 donne quelques caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol.

Tableau I.1 : Quelques caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol [12]

Paramètre	Unité	Bioéthanol
Formule	/	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
Masse moléculaire	g/mol	46 ,069
Apparence	/	Liquide incolore
Densité	kg/litre	0,79
Indice d'octane (RON)	/	102-103
Indice d'octane (MON)	/	89-96
Chaleur latente de vaporisation	KJ/kg	842-930
Pression de vapeur	Kpa	15-17
Température d'allumage	°C	420
Température de fusion	°C	-144,4
Température de vaporisation	°C	78,4
Point d'éclair	°C	12,8
Solubilité dans l'eau	En volume%	100

## I.2 Générations de bioéthanol (1ère, 2ème et 3ème génération)

Il existe trois générations de bioéthanol qui sont fondées sur différentes matières premières.

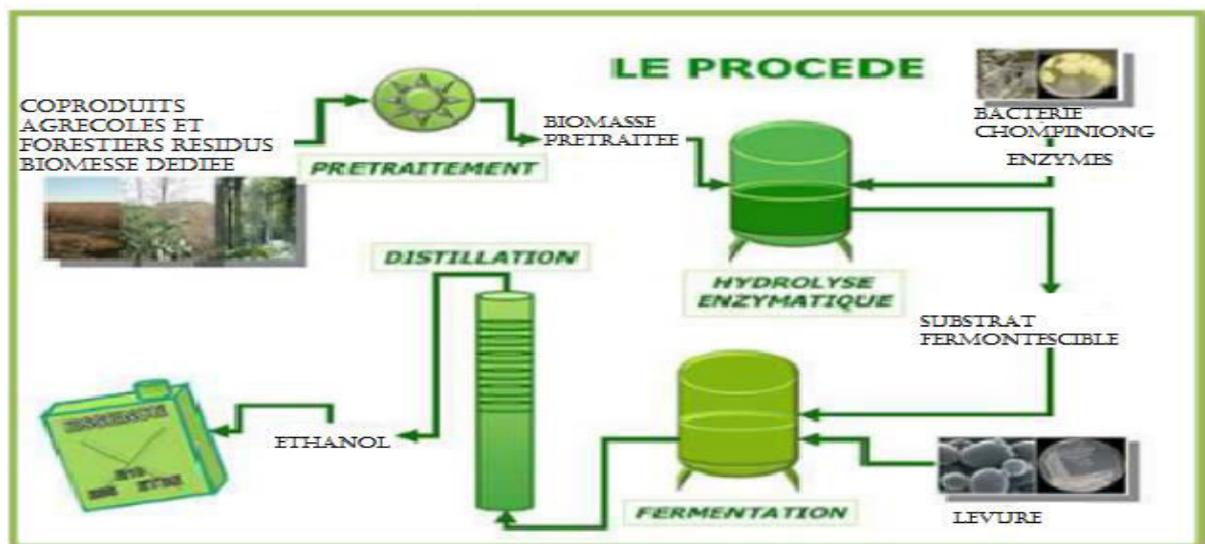


Figure I.1. Procédé de production de bioéthanol [13]

**A. Le bioéthanol de première génération**

Le bioéthanol de première génération est un produit issu de la fermentation alcoolique de sucres fermentescibles (glucose, saccharose, etc.) [14]. Ces sucres sont soit directement présents dans la plante (canne à sucre, betterave sucrière), soit obtenus après hydrolyse enzymatique de l'amidon contenu dans les grains de blé ou de maïs [15].

Cependant, le bioéthanol de première génération entre en concurrence directe avec la chaîne alimentaire. Il est produit à partir de matières premières qui peuvent être utilisées dans une chaîne alimentaire animale ou humaine. Ce qui peut entraîner une augmentation des prix des denrées alimentaires. D'un autre côté, ce bioéthanol est économiquement déraisonnable, car les teneurs en carbone des plantes sont principalement perdues au cours du processus de conversion [12].

**B. Le bioéthanol de deuxième génération**

Le bioéthanol de deuxième génération, également appelé « biocarburant avancé », est produit par l'exploitation des matières premières lignocellulosique telles que le bois, les feuilles et les tiges des plantes ou celles issues de déchets. Ces matières présentent un avantage de disponibilité supérieure et de non concurrence alimentaire par rapport à la première génération de bioéthanol [12]. La technologie de production du bioéthanol dit de deuxième génération 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[12].

**C. Le bioéthanol de troisième génération**

Les microorganismes tels que les algues sont utilisées dans la production de bioéthanol de troisième génération car cette biomasse est convertie directement en énergie en utilisant l'énergie solaire le CO<sub>2</sub>. Les facteurs technologiques et environnementaux influent directement sur cette production [12].

## I.3. Comparaison entre les trois générations

Tableau I.2 : Les trois générations de bioéthanol [16]

Génération de Bioéthanol	Première Génération	Deuxième Génération	Troisième Génération
Source de matière première	Culture comestible (Canne à sucre, maïs, betterave)	Culture non comestible (Résidus agricoles et forestiers)	Biomasse algale
Utilisation des terres pour la culture	Croque sur les terres arables	Croque sur les terres arables et Marginales	Eau de mer Eaux douces Eaux usées
Technologies de Conversion	Extraction de sucre Fermentation et Distillation	Prétraitement, hydrolyse, fermentation, distillation	Distillation et Fermentation
Rendement en Bioéthanol	Faible	Moyen	Élevé
Impact sur l'environnement	Faible apport à l'atténuation du CO <sub>2</sub>	Contribution élevée à l'atténuation du CO <sub>2</sub>	Contribution élevée à l'atténuation du CO <sub>2</sub>
Avantages ou inconvénients	Processus de conversion ré nativement simple	Pas de concurrence avec la ressource alimentaire	Investissements limités et difficultés dans la conception des processus

## I.4.1. Production de bioéthanol à l'échelle mondiale

L'éthanol a différents débouchés, tels que l'alcool de bouche, l'alcool industriel et l'éthanol carburant. L'évolution de La production d'éthanol industriel et l'éthanol de consommation humaine a été relativement stable de 2001 à 2010 passants de 12000 000 m<sup>3</sup> à 15 000000 m<sup>3</sup> [17].

Dans les années 1990, l'éthanol produit à partir du pétrole représentait 7% du marché de l'éthanol. En 2006, le pourcentage a diminué à moins de 4% du marché et en 2009 il n'était plus produit que par voie fermentaire. Ceci est dû à l'augmentation du prix du pétrole depuis les années 2000. L'augmentation de la production est essentiellement liée à l'utilisation de l'éthanol en tant que carburant [17].

L'augmentation de la production d'éthanol carburant est devenue presque exponentielle depuis 2000. La hausse était de 58 à 80% en 2010 et jusqu'à l'année 2015. Ceci est expliqué par les raisons suivantes :

- l'augmentation du prix du pétrole et à son instabilité ;
- l'augmentation des demandes énergétiques des pays émergents ;
- la diminution des réserves de pétrole ;
- l'intérêt environnemental de l'utilisation d'éthanol carburant ;
- l'instabilité politique des régions productrices de pétrole [18].

En effet, les Etats Unis ont limité la production d'éthanol suite à une forte sécheresse sur le continent nord-américain et donc de faibles récoltes, pour réorienter une partie du maïs vers le marché de l'alimentaire [18].

En outre, la répartition mondiale de la production de bioéthanol est comme suit : En tête : les Etats Unis avec une part de 48 % de la production mondiale de biocarburants (bioéthanol) ; le Brésil avec 22 % et l'Union Européenne avec 16 % (2012) [18].

Ces trois régions produisent, à elles seules, plus de 86 % de la production mondiale des biocarburants comme le montre la figure ci-dessous (figure I.2) [12].

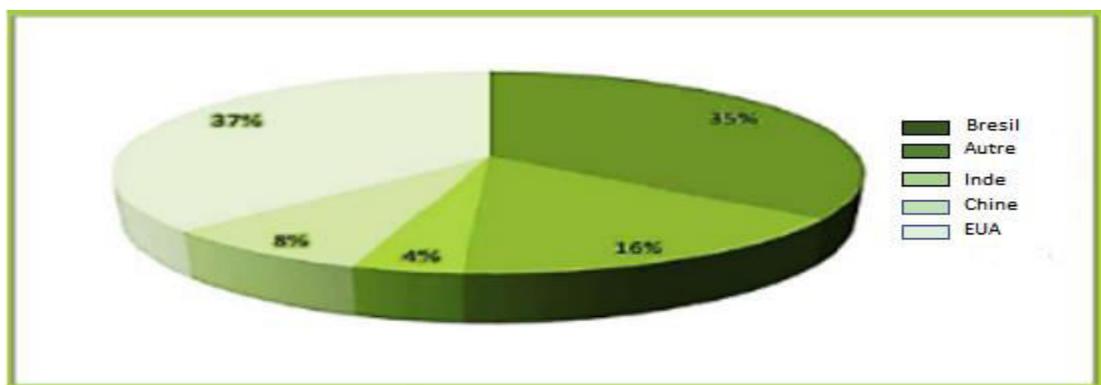


Figure I.2 : Distribution de la production mondiale de bioéthanol (2006) [12]

#### I.4.2. Production de bioéthanol à l'échelle continentale

L'Afrique peut devenir un grand producteur d'éthanol extrait à partir de la biomasse comme il est indiqué dans le tableau I.3.

Le bioéthanol produit peut être mélangé à l'essence en des proportions allant de 5 à 85%. Au-delà de 20% des adaptations aux moteurs de voitures sont nécessaires. Ce qui a conduit pétroliers européens à transformer l'éthanol en ETBE (éthyle tertio butyle éther) qui peut être incorporé à l'essence jusqu'à hauteur de 15%. L'ETBE aurait l'avantage d'être mieux adapté aux moteurs. En effet, l'incorporation directe de l'éthanol à l'essence pose certaines difficultés techniques : le mélange essence/éthanol a une pression de vapeur plus élevée et tolère mal la présence de traces d'eau [19].

**Tableau I.3 : Pays africains producteurs de bioéthanol en Afrique [20]**

Pays	Million (gallon)
Sud d'Afrique	110
Soudan	26
Zimbabwe	3
Kenya	6

#### I.4.3. Production de bioéthanol à l'échelle nationale

L'Algérie, possède un potentiel considérable en déchets et sous-produits de plantes qui contiennent le saccharose ce qui permet de lancer un programme très riche. La production d'éthanol à partir de betterave constitue une solution intéressante sur le plan économique. Cet alcool peut remplacer avantageusement celui obtenu par voie chimique à partir des produits pétroliers. En outre, l'intérêt de produire de l'éthanol vient du fait que c'est une substance énergétique et son utilisation couvre un champ étendu d'activités industrielles : fabrication d'intermédiaires chimiques (produits de beauté, parfums, cosmétiques, produits pharmaceutiques. De solvants, de détergents, etc. Enfin, il est utile de signaler, selon la Régie des Alcools, que notre pays importe entre 30000 et 50000 hectolitres d'alcool éthylique par an afin de couvrir ses différents besoins. En considérant les conditions climatiques, la disponibilité de la matière première, les exigences technologiques et la demande nationale en alcool, un programme expérimental au niveau des laboratoires et à l'échelle pilote a été entrepris [21].

## I.5. Avantages et les inconvénients du bioéthanol

Le tableau I. 8 résume les différents avantages et inconvénients du bioéthanol [20].

**Tableau I.4 : Avantages et les inconvénients du bioéthanol [20]**

Avantages	Inconvénients
<b>Diminution des émissions de dioxyde de carbone et meilleur rendement énergétique des moteurs à explosion</b>	Les véhicules utilisant l'E85 produisent des émissions plus élevées d'oxyde d'azote, d'éthylène et d'acétaldéhyde que les véhicules à essence
<b>Indice d'octane* élevé permettant une meilleure efficacité des moteurs à explosions</b>	Indice de cétane** faible ne permettant pas l'utilisation dans les moteurs à combustion interne sans l'ajout d'un accélérateur d'ignition
<b>Diminution des émissions de particules, de soufre, de benzène et de butadiène 1-3</b>	Augmentation des émissions d'hydrocarbures par évaporation nécessitant un réglage de la pression de vapeur du carburant
<b>Risque moins élevé de formation d'ozone que l'essence et le diesel</b>	Emission d'acide acétique en cas de réaction entre le catalyseur et le carburant résiduel à l'échappement
<b>Biodégradable</b>	Corrosion des pièces en contact avec l'éthanol
<b>Capacité énergétique inférieure à celle de l'essence (21285 kJ kg-1 pour l'éthanol contre 32020 kJ kg-1 pour l'essence)</b>	Augmentation de la consommation volumique de carburant
<b>Diminution de la dépendance au pays producteurs de pétrole</b>	Prix encore élevé
<b>Stimulation du milieu rural</b>	Concurrence entre alimentation et énergie

### I.6. Domaines d'utilisation du bioéthanol

Il peut être utilisé :

- Comme un carburant dans les moteurs à essence, soit de 5 à 20% dans les moteurs à essence sans modification et/ou de 85 à 100% dans des moteurs à essence spécifiquement adaptés.
- Il peut être converti en divers produits de base de l'industrie chimique tels que, l'éthylène, l'éther et l'éthyle tertio butyle (ETBE), conventionnellement, produits à partir du pétrole [22].

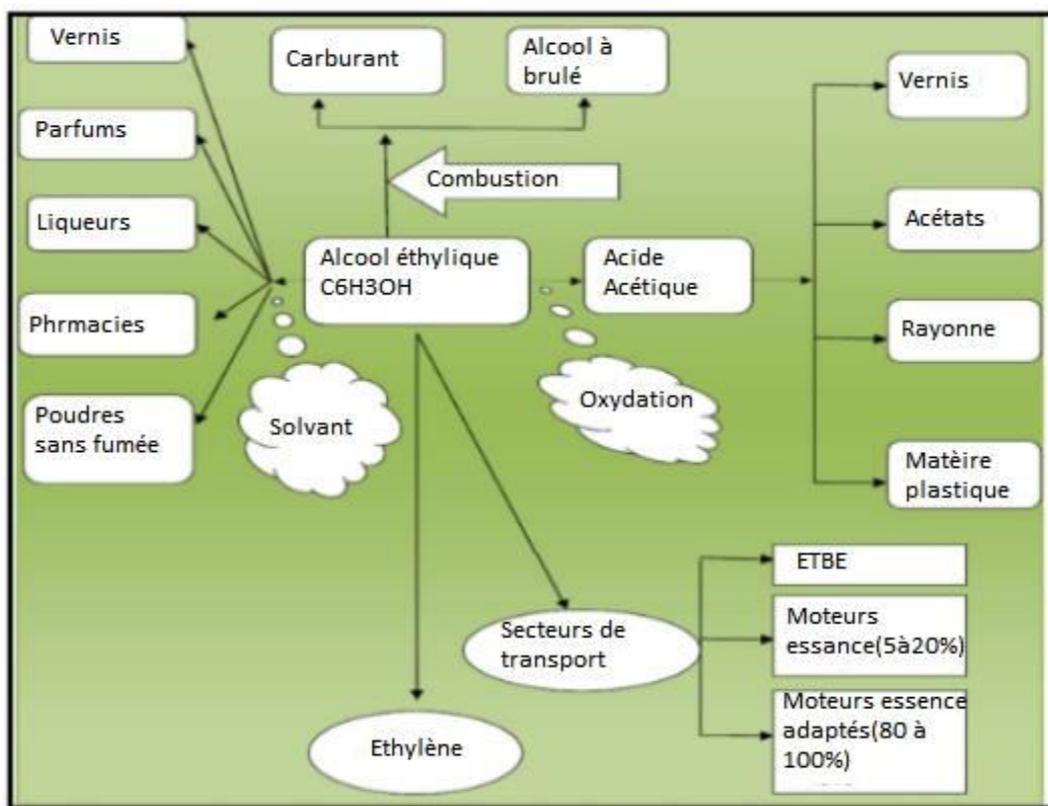


Figure I.3 : Domaines d'utilisation du bioéthanol [21, 23]

### I.7. Conclusion

La production d'éthanol cellulosique fait actuellement l'objet de nombreuses recherches. Elle reste une voie d'avenir due à la disponibilité de la matière première ainsi que la possibilité de fermenter l'ensemble de la plante simultanément.

## *CHAPITRE II*

# *Méthodologies d'extraction de biomasse*

## II.1. Introduction

La fermentation est connue depuis les anciens temps. Divers peuples (égyptiens, sumériens, Babyloniens, ...) ont l'utilisée pour préparer de produits alimentaires comme le pain, les fromages, les boissons alcoolisées, etc. Actuellement, la fermentation est utilisée pour la fabrication de produits d'intérêt industriel (yaourts, bière, antibiotiques, vitamines, anticorps, bioéthanol, acides gras, etc.) [24].

La fermentation alcoolique (qui produit des alcools) consiste en la transformation par les levures, principalement *Saccharomyces Cerevisiae* des sucres, principalement le glucose et en éthanol et en dioxyde de carbone. Dans une fermentation alcoolique en batch, environ 30 à 35% de la source de carbone est convertie pour produire la biomasse cellulaire tandis que 50% d'hydrates de carbone est transformée en éthanol. Le reste des substrats est utilisé pour la production de l'énergie et l'entretien des cellules [24].

Les cellules vivantes constituent un système organisé avec des entrées de substrats, d'oxygène, de facteurs de croissance et des sorties de déchets comme le CO<sub>2</sub> et l'éthanol.

La culture des cellules microbiennes, nécessite un environnement adéquat du point de vue du pH, de la température. Ceci permet le développement, la maintenance et la reproduction des cellules dans de bonnes conditions [25].

## II.2. Energie de biomasse

### II.2.1. Définition de la biomasse

La biomasse est une source d'énergie renouvelable unique puisqu'elle peut se présenter sous forme liquide, solide, ou encore gazeuse [18].

Dans le domaine de l'énergie, la biomasse regroupe « la fraction biodégradable des produits, déchets et résidus provenant de l'agriculture, y compris les substances végétales et animales, de la sylviculture et des industries connexes ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et ménagers » [26].

### II.2.2. Définition de la biomasse végétale

La biomasse végétale est constituée principalement de matière organique ainsi que de matière inorganique en plus faible quantité. La matière organique à l'échelle macromoléculaire consiste en la cellulose, l'hémicellulose, la lignine et des matières extractibles [2]. Cette matière doit être hydrolysée afin de la rendre accessible aux micro-organismes. Dans un

premier lieu, la biomasse subit un prétraitement afin d'en éliminer la lignine. Au cours de cette étape, une partie de l'hémicellulose peut être convertie en sucres. En second lieu, la cellulose et l'hémicellulose restantes subissent une hydrolyse acide ou enzymatique et les sucres obtenus sont par la suite fermentés en Éthanol [27].

### **II.2.3. Composition de la biomasse**

La biomasse lignocellulosique est composée de cellulose, d'hémicellulose et de lignine dans des quantités variables avec 10 % de substances minérales (cendres, silice) et 10% à 80% d'humidité. La cellulose est composée de chaînes linéaires de glucose. Son hydrolyse donne des monomères de glucoses facilement fermentables en éthanol. Mais ses fibres sont protégées par l'hémicellulose et la lignine. L'hémicellulose est composée de chaînes de différents sucres à 5 carbones (xylose, arabinose) ou 6 carbones (glucose, galactose, mannose). La lignine est formée d'alcools aromatiques et d'autres molécules organiques liés et fortement réticulés [28].

### **II.2.4. Ressources de biomasse**

Les filières agricoles, forestières et l'industrie agro-alimentaire sont les principaux agents fournisseurs de biomasse comme le montre la Figure I.1 Cette biomasse est susceptible d'être valorisée énergétiquement avec production de biodiésel, bioéthanol, bio méthane et hydrogène. Les différentes voies de production de bioéthanol à partir des plantes sucrières (betteraves, datte...) et de plantes lignocellulosique sont décrites ci-dessous [29].

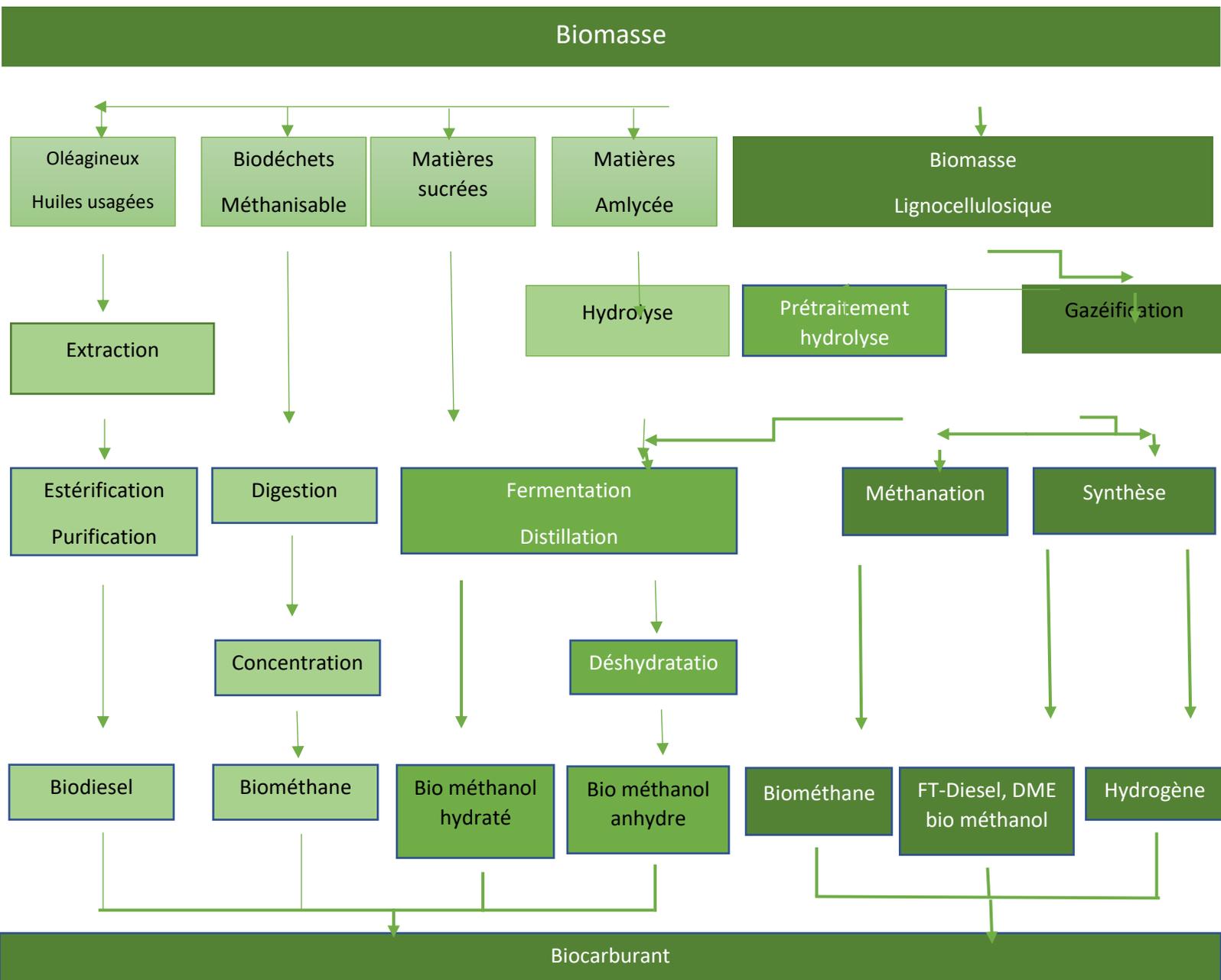


Figure II.1 : Ressources de biomasse utilisées pour la fabrication de biocarburants [30]

### II.2.5. Avantages et inconvénients de la biomasse

La biomasse représente une source d'énergie renouvelable, durable, propre et respectueuse de l'environnement. Elle présente donc plusieurs avantages mais possède également des inconvénients ; ces derniers sont résumés sur le Tableau II.1

Tableau II.1: Avantages et inconvénients des différentes ressources de biomasse [31]

Avantages	Inconvénients
<b>La préservation des ressources de matière premières comme le pétrole brut</b>	L'extension de l'utilisation de la biomasse à des terres naturelles inutilisées peut détruire les écosystèmes. La déforestation a un effet négatif substantiel sur l'empreinte carbone.
<b>La possibilité de la production d'énergie neutre en carbone</b>	L'apparition de monocultures (culture du maïs). La concurrence pour l'utilisation des terres restera toujours un facteur important pour la biomasse et la bioénergie.
<b>La production de bioénergie peut améliorer la situation économique des zones rurales et freiner l'exode vers les villes</b>	Des terres de grande valeur écologique pourraient être menacées par la promotion de la culture de plantes agricoles.
<b>La bioénergie provenant d'asylie culture et de l'agriculture joue un rôle clé dans la lutte contre le changement climatique et elle accroît la sécurité de l'approvisionnement en énergie.</b>	La combustion de la biomasse solide (comme le bois) cause des émissions de polluants (monoxyde de carbone, particules,) plus importantes que la combustion de pétrole ou de gaz, à moins que des mesures supplémentaires ne soient prises.

### II.2.6. Prétraitement de biomasse

C'est une étape primordiale pour rendre la cellulose accessible à l'hydrolyse (modifier les propriétés physiques et physicochimiques de la lignocellulosique) par différents procédés [23]. Ces derniers peuvent être physiques, thermochimiques et biologiques (Tableau II.2). Les procédés chimiques ont été largement utilisés.

Tableau II.2 : Différents procédés de prétraitement de la biomasse [13,33]

Type de procédés	Exemple
<b>Procédés physiques</b>	Broyage et radiations de haute énergie
<b>Procédés chimiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Avec des acides</li> <li>- Avec des bases</li> <li>- Avec des solvants organiques (Organosol)</li> <li>- Avec des agents oxydants</li> <li>- Avec des liquides ioniques</li> </ul>
<b>Procédés Thermochimiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Explosion à la vapeur</li> <li>- Prétraitements à l'ammoniac</li> <li>- Explosion au CO<sub>2</sub></li> <li>- Prétraitement mécanique/alcalin</li> <li>- Torréfaction</li> </ul>
<b>Procédés biochimiques</b>	- Utilisation de champignons pour rendre soluble la lignine
<b>Combinés</b>	- Explosion de vapeur catalysée

### II.3. Production du bioéthanol

La production du bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique comporte plusieurs étapes :

- 1- Libérer de la cellulose et l'hémicellulose avant hydrolyse par un prétraitement,
- 2- Hydrolyser la cellulose et de l'hémicellulose afin de produire des sucres fermentescibles tels que le glucose, xylose, arabinose, galactose et mannose,
- 3- Fermenter les sucres réducteurs,
- 4- Distiller le surnageant du moût de fermentation pour obtenir le bioéthanol pur [34].

#### II.3.1. Hydrolyse

Le prétraitement acide de la biomasse (plantes lignocellulosique, résidus d'agriculture, algues, etc.) Permet de libérer les hémicelluloses en premier. En effet, une concentration de 0,01 M

d'acide sulfurique est généralement suffisante pour rompre les hémicelluloses en leurs monomères [35].

Il existe deux méthodes d'hydrolyse de la ligno cellulose: L'hydrolyse chimique et l'hydrolyse enzymatique.

### A. L'hydrolyse chimique

Elle implique l'exposition de la ligno cellulose à un produit chimique pour une période de temps et une température spécifique. Il existe deux types basiques d'hydrolyse chimique :

Hydrolyse à l'acide concentré et hydrolyse à l'acide dilué chacune avec des variations. [32]

### B. L'hydrolyse enzymatique

C'est une alternative écologique qui consiste à utiliser des enzymes (cellulases et hémicelluloses) afin d'hydrolyser la Lignocellulosic en sucres fermentescibles.

### II.3.2. La fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique consiste à transformer les sucres fermentescibles en anaérobiose par des levures en alcool et gaz carbonique avec dégagement de calories selon la réaction suivante [36] :



Elle est réalisée dans un milieu riche en sucres. Le milieu de culture est introduit dans le fermenteur puis inoculé avec le milieu de pré-fermentation. [37].

On retrouve généralement le glucose et le fructose comme source d'énergie. L'espèce de levures *Saccharomyces Cerevisiae* est l'agent responsable de cette fermentation qui se déroule en anaérobiose. Par dégradation d'une molécule de sucre *via* la voie de la glycolyse, on obtient deux molécules d'ATP. Durant cette voie, deux molécules de cofacteur NAD<sup>+</sup> sont réduits en NADH. La production d'éthanol à partir du pyruvate de la glycolyse est la conséquence de la ré oxydation de ces cofacteurs. Lors de la fermentation alcoolique, la macération provoque l'extraction de la couleur. La fermentation se déroule en milieu non renouvelé [35].

La croissance de *Saccharomyces Cerevisiae* peut être limitée par l'accumulation des substances toxiques. Signale que les acides gras (l'acide océanique, de canonique, formés par les levures, deviennent toxiques pour elle [35].

Les fermentations sont des procédés multiphasiques, ce qui pose des contraintes biologiques et physico-chimiques. Les fermenteurs nécessitent un système organisé avec des entrées de substrats, d'oxygène, de facteurs de croissance et des sorties de déchets comme le CO<sub>2</sub> et l'éthanol [35].

Les microorganismes ont besoin d'un environnement adéquat du point de vue du pH, de la température, de la force ionique, de la présence de cofacteurs enzymatique et d'effecteurs enzymatiques pour pouvoir se développer et produire les métabolites d'intérêt [35].

Les systèmes multiphasiques s'opposent à des contraintes de transferts entre chacune des phases, ce qui entraîne, lors de leurs mises en œuvre à grande échelle, l'hétérogénéité du milieu [35].

#### **II.4. Les caractéristiques de la levure boulangère type « *Saccharomyces cerevisiae* »**

##### **II.4.1. Définition de la levure boulangère type (*Saccharomyces cerevisiae*)**

Les levures sont des eucaryotes microscopiques, unicellulaire, hétérotrophes, ubiquistes, faisant partie du groupe des champignons. Elle a été découverte, isolée et identifiée au milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle. Ce champignon, capable de métaboliser des sucres, (saccharo-) responsable de la fermentation fut appelé *Saccharomyces Cerevisiae* par Mayenen1837 [38].

##### **II.4.2. Rôle de la levure *Saccharomyces cerevisiae***

Depuis l'Antiquité, les Babyloniens, les Égyptiens et Celtes ont utilisé la levure pour la préparation de boissons alcoolisées. Vers 370 ans avant J.-C, Hippocrate, le célèbre médecin grec, a découvert l'action diurétique de la levure de bière et l'a conseillé comme remède. Au Moyen-âge, les moines qui soignaient les lépreux absorbaient de la levure afin de ne pas être contaminés à leur tour. De nos jours, la levure *Saccharomyces Cerevisiae* est largement utilisée dans l'industrie alimentaire pour la fabrication des boissons alcoolisées, du pain, des produits de santé et du biocarburant [39].

##### **a) Morphologie et Structure**

Les levures se caractérisent par la présence d'un : Noyau, mitochondrie, appareil de Golgi et des chromosomes. Les cellules végétatives sont généralement ovoïdes ou sphériques. Leur taille cellulaire varie de quelques microns jusqu' à 25 à 30 microns [39].

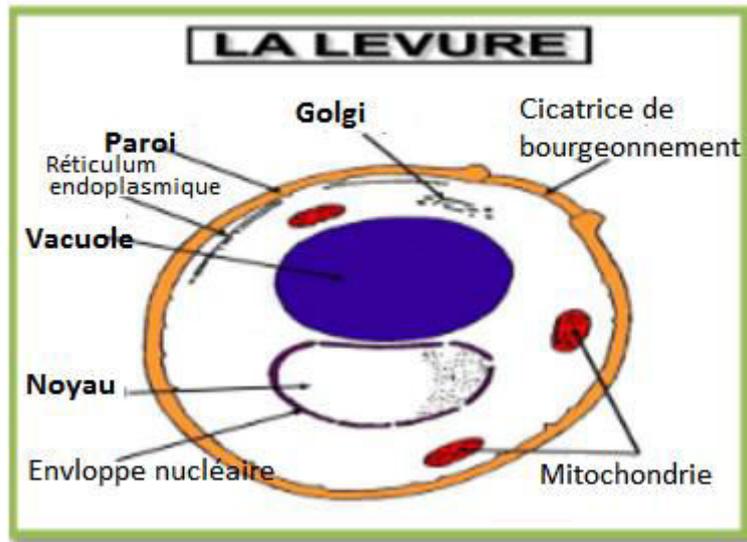


Figure II.2: La structure morphologique et les constituants de la levure type (*Saccharomyces cerevisiae*) [39].

#### II.4.3. Croissance microbienne

La courbe de croissance microbienne en mode discontinue présente différentes phases

**A. La phase de latence :** elle correspond à une période d'adaptation métabolique du micro-organisme au milieu. Elle est réduite au maximum en fermentation industrielle.

**B. La phase exponentielle de croissance :** c'est la phase au cours de laquelle la vitesse spécifique de croissance ( $\mu_{\text{expo}}$ ) est maximale. La quantité de nutriments est en excès et la biomasse augmente donc le plus rapidement. Les produits formés au cours de cette phase sont les métabolites primaires. Tant que n'apparaît pas de facteur limitant la croissance, la phase exponentielle se poursuit. En coordonnées semi-logarithmiques  $\ln X = f(t)$ , la courbe de la phase exponentielle est une droite. Pour cette phase, on a la relation :

$$\frac{dx}{dt} = \mu X \Rightarrow \ln \frac{X_t}{X_0} = \mu t$$

Pendant la phase exponentielle, la vitesse spécifique atteint sa valeur maximale ; elle est notée  $\mu_{\text{max}}$ . nous avons alors :

$$X_t = X_0 e^{\mu_{\text{max}} t} \quad (\text{Eq.1})$$

$X_t$  est la biomasse microbienne à l'instant  $t$  (g/L),

$X_0$  est la biomasse microbienne initiale (g/L),

$\mu_{\max}$  est la vitesse spécifique de croissance pendant la phase exponentielle (h-1),

t est le temps (h).

La biomasse microbienne  $X_t$  peut être remplacée par soit par la concentration d'oxygène (procédé aérobie) ou la concentration de gaz carbonique (procédé anaérobie) qui varie avec le temps. L'équation (1) reste alors valable.

**C. la phase stationnaire :** elle apparaît après une phase de ralentissement. Elle fait suite à la consommation des nutriments et à la présence de déchets microbiens.

**D. La phase de déclin :** elle correspond à la diminution de la biomasse qui est liée à une lyse cellulaire.

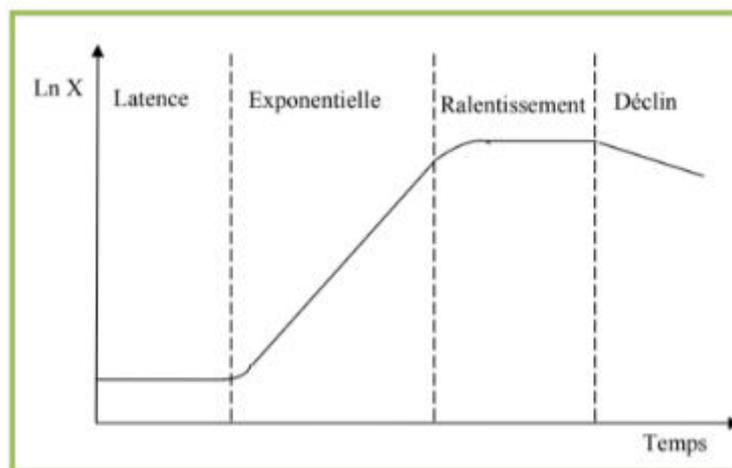


Figure II.3. Les phases de la croissance bactérienne en mode discontinu [40]

#### II. 4.4. Conditions de culture

*Saccharomyces Cerevisiae* peut être cultivée dans un milieu liquide ou solide. Deux types de milieu de culture peuvent être utilisés: un milieu riche sélectif et un milieu synthétique. La biomasse est composée principalement d'eau et des éléments CHON (carbone, hydrogène, oxygène, azote) ; le milieu doit donc fournir ces éléments pour permettre la croissance. Les besoins des levures pour leur croissance sont les suivants :

**Tableau II.3 : les éléments nutritifs consommé par le (*Saccharomyce cerevisiae*) lors de son métabolisme fermentaire [41]**

Les éléments nutritifs	Exemples
<b>L'eau</b>	Les levures sont constituées de 75% d'eau et 25% de matière sèche
<b>Une source de Carbone</b>	Représente environ 50% du poids sec de la levure
<b>Une source d'azote</b>	Les levures contiennent 10% environ d'azote, entrant dans la composition des acides aminés, des acides nucléiques et de certaines vitamines. Il est apporté par le milieu de culture sous la forme de sels d'ammonium (phosphate, sulfate, chlorure et nitrate)
<b>Une source des vitamines</b>	Des régulateurs et des cofacteurs importants des voies métaboliques. Elles agissent généralement comme coenzymes où précurseurs d'enzymes. <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> est aux otrophepour les vitamines suivantes qui seront ajoutées au milieu de culture
<b>Des oligo-éléments (ions inorganiques)</b>	<p>Les macroéléments : K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> , Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup> dont la concentration nécessaire varie entre 0,1 et 1 mm</p> <p>Les microéléments : CO<sup>2+</sup> , B<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> , Cr<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, I, Mo<sup>+</sup>, Ni<sup>2+</sup> pour lesquels une concentration de 0,1 à 100 μM est suffisante</p>

## II. 4.5. Influence des paramètres environnementaux sur le métabolisme de la levure

### II.4.5.1 Influence du pH

La levure *Saccharomyces cerevisiae* présente l'avantage de croître sur un milieu acide, pour lequel la plupart des bactéries ne se développent pas. Elle tolère un pH compris entre 4,5 et 5 [42].

### II.4.5.2 Influence de la température

La température convenable pour la levure *Saccharomyces Cerevisiae* se situe entre 25°C et 35°C. Il s'agit d'organismes mésophiles [43].

L'augmentation de la température accroît la vitesse de la production de certains métabolites comme l'éthanol. Mais, elle augmente la sensibilité et l'effet néfaste des stress tels que les chocs osmotiques qui provoquent une diminution de la viabilité, et de l'activité cellulaire [44].

### II.4.5.3. Influence de l'éthanol

L'éthanol représente la principale cause de stress et devient toxique à des concentrations allant de 8 à 18% (m/v) pendant la culture et ceci selon l'état physiologique de l'organisme. Une fois la concentration de l'éthanol augmente dans le milieu de culture, on assiste à une diminution de la vitesse de la croissance, de la viabilité cellulaire, de l'activité métabolique et de la capacité de production de la levure [45].

### II.4.5.4. Influence de l'oxygène

La concentration en oxygène dissous dans le milieu de culture est un paramètre important qui va orienter (en fonction de la souche utilisée, du mode de conduite, ...) le métabolisme du microorganisme considéré. La tolérance à l'éthanol peut augmenter notablement lorsqu'on maintient un apport de faibles quantités d'oxygène dans le système [46].

### II.4.5.5. Influence du substrat

En général, l'inhibition par le substrat se manifeste de façon importante pour des concentrations qui varient entre 150 et 250 g.L<sup>-1</sup> de glucose et à 400 g.L<sup>-1</sup>, la croissance est totalement stoppée [46].

*Chapitre III*  
*Matériel et méthodes*

### III.1. Introduction

Le but de ce travail est de mettre en œuvre des manipulations afin de produire l'éthanol par voie fermentaire en utilisant des résidus d'agriculture. Pour cela, des méthodes expérimentales inspirées de travaux antérieurs ont été sélectionnées. Ces méthodes sont décrites dans les paragraphes ci-dessous.

### III.2. Matériel

Dans le présent travail, nous avons utilisé du matériel végétal, biologique et chimique. Nous avons aussi eu recours à des appareils. Ces produits et appareils sont cités dans le tableau III.1.

**Tableau III.1. Matériel et appareils utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol**

Type de matériel	Matériel
<b>Matériel végétal</b>	- Betterave sucrière algérienne de moindre qualité - Dattes algériennes de moindre qualité provenant de la région du Sahara - Cactus algériennes de moindre qualité
<b>Matériel biologie (Micro-organisme)</b>	Levure boulangère (Saccharomyces <i>Cerevisiae</i> )
<b>Appareilles utilisés</b>	- pH-mètre - Spectrophotomètre - Thermomètre - Balance - plaque chauffante - Etuve - Four - Distillateur
<b>Réactifs chimiques</b>	Acetone , ethanol, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Hcl, alcool (CHO <sub>4</sub> ), Fecl <sub>3</sub> , stiasny, pb (CH <sub>3</sub> Coo) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NH <sub>4</sub> OH, Zinc, alcool, isoamylique, chloroforme, NH <sub>4</sub> OH, isopropanol, anhydride,

---

acétique, Fehling, ether.

---

### III.2.1. Matériel biologique « *Saccharomyces cerevisiae* »

L'espèce de levure *Saccharomyces Cerevisiae* sélectionnée dans le présent travail est celle commercialisée en Algérie. Elle doit être stockée à l'obscurité en étant hermétiquement fermée. Les conditions de croissance et d'activité dans un milieu humide sont données dans le tableau III.2.

**Tableau III.2 : Conditions de croissance de la levure *Saccharomyces cerevisiae* [47]**

Paramètres physico-Chimiques	Conditions optimales pour l'activité Leveurienne
Température	Ambiante
pH	Acide
Type de fermentation	Anaérobie
Sucres fermentés	Saccharose, sucres de betterave, sucres des dattes

### III.2.2. Matériel végétal « Betterave, dattes et cactus »

Dans ce travail, nous avons utilisé le saccharose, la betterave, les dattes et les raquettes de cactus d'origine locale comme source énergétique afin de produire le bioéthanol.

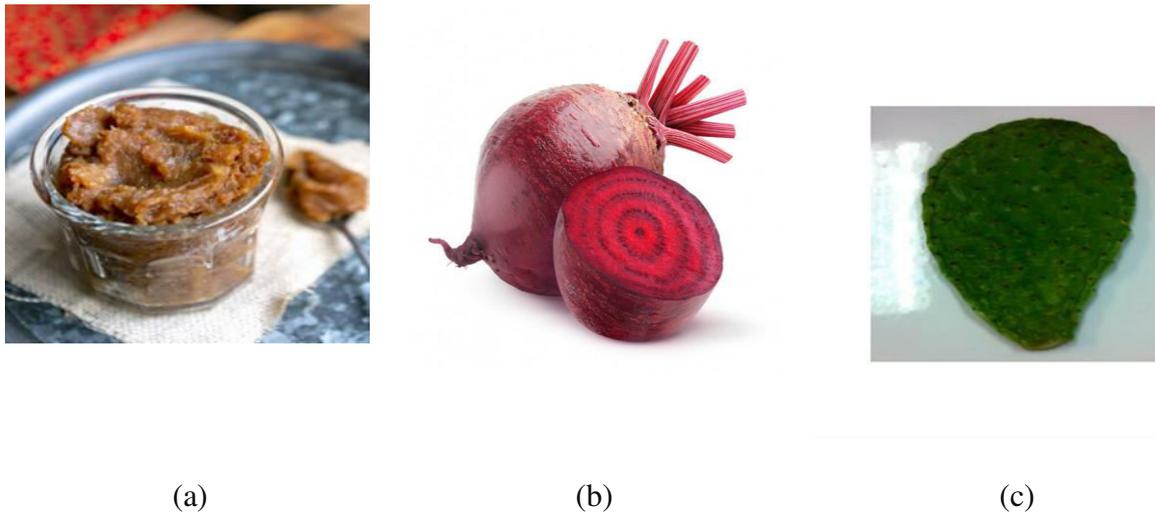
#### a. La betterave

La betterave sucrière (*Beta vulgarise*) appartient à la famille des chénopodiacées, originaire du bassin méditerranéen. Sa teneur en saccharose varie de 16 à 20 % et elle est beaucoup moins exigeante en eau et plus riche en sucre que la canne. Dans une tonne de betterave on peut extraire 130 à 140 Kg de sucre, 50 Kg de mélasse et 500 Kg de pulpes humides [48].

Un volume de 86 litres de bioéthanol et une quantité de 51 kg d'une tourte fibreuse (utilisée pour l'alimentation animale) sont issus d'une tonne de tubercules [49].

#### b. Les dattes

La datte est le fruit de palmier dattier. Elle peut être un substrat de choix pour produire de nombreuses substances à forte valeur ajoutée tel que l'éthanol [50]. Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. Généralement, on note la présence de trois types de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose [51].



**Figure III.1. Matériel végétal utilisé comme matière première pour produire du bioéthanol**

**(a) Pâte des dattes, (b) Betterave, (c) cactus**

### **C-Cactus**

La plante *Opuntia ficus-indica* pousse dans toute l'Algérie, elle peut atteindre 3 mètres de haut. La base âgée est plus ou moins cylindrique et lignifiée, portant une suite de « raquettes » de plusieurs décimètres de long et articulées les unes sur les autres, de forme ovée, oblongue (cladodes). Les aréoles sont espacées et porteuses de poils irritants et d'épines courtes. Cette plante 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. Des propriétés offrant une meilleure adaptation aux conditions arides et semi-arides et une culture dans les régions sèches. [52]

En effet, les cladodes d'*O. Ficus-indica* pourrait servir de seconde production de matières premières pour la production de matière première afin de produire le bioéthanol sans la concurrence pour les terres agricoles à fort prix ou de façon importante ; remplacer la végétation naturelle [53].

### **III.3. Analyses physiques des fruits (datte, betterave, cactus)**

#### **III.3.1. Aspect des raquettes (cladodes)**

Ovoïdes aplatis en forme de raquette (cladode), de couleur vert mat, elles sont couvertes de petites aréoles et d'épines.

### III.4. Analyses chimiques des raquettes d'*O. Ficus indica*

#### III.4.1. Détermination du pH

##### - Principe

La mesure du pH est basée sur la différence du potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence plongées dans le produit. Cette détermination est réalisée à l'aide d'un pH mètre.

##### - Mode opératoire

- Placer le jus de la figue de barbarie dans un bécher.
- Procéder à la détermination du pH en prenant soin que l'électrode soit complètement immergée dans la solution. Effectuer la lecture de la valeur.

#### III.4.2. Solubilité [54]

##### - Principe

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

##### - Mode opératoire

Les cladodes d'*O. Ficus indica* ont été broyées à l'aide d'un mixeur électrique jusqu'à l'obtention d'un gel. Ensuite, ce dernier a été réparti dans trois (03) béchers. Dans le premier bécher, nous avons rajouté de l'acétone, de l'éthanol dans le deuxième bécher et de l'eau distillée dans le troisième bécher. A la fin, nous avons remis chaque bécher sur un agitateur pendant 30 minutes.

#### III.4.3. La perte à la dessiccation [55]

##### - Principe

La perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage m /m.

##### - Mode opératoire

- Mettre 10 g des feuilles 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.

#### III.4.4. Détermination de la teneur en eau [56]

##### - Principe

On procède à 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 pratiquement

constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur.

- **Mode opératoire**

- Après le broyage de la plante de cactus, mettre 2g de gel dans un vase.
- Placer le vase dans une étuve réglée à 105°C → pendant 3h.
- Peser l'ensemble et répéter la même opération en réduisant le temps (une heure seulement).

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

$$\text{teneur en eau (\%)} = [(p_2 - p_3) / (p_2 - p_0)] * 100$$

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.

#### III.4.5. Détermination de la teneur en matière sèche

A partir de la teneur en humidité on peut déterminer le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivant :

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

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.

#### III.4.6. Détermination de la teneur en cendres totales [57]

##### - Principe

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

##### - Mode opératoire

- Chauffer un creuset pendant 30 min.
- Laisser refroidir dans un dessiccateur.
- Introduire 1 g de l'échantillon pulvérisé dans le creuset.
- Répartir uniformément la prise d'essai à l'intérieure du creuset.
- Dessécher pendant 1h à 100 -105°C puis incinérer dans un four a moufle, à une température de 600+25°C pendant 2 h.
- Continuer l'incinération jusqu'à l'obtention d'une masse constante.
- Après chaque incinération, laissé refroidir le creuset au dessiccateur. Si les cendres contiennent encore des particules noires après une incinération, plonger les dans l'eau chaude et filtrer sur un filtre sans cendres.
- Incinérer de nouveau le résidu avec le filtre, réunir le filtrat et les cendres, évaporer prudemment à siccité et incinérer jusqu'à une masse constante.

La teneur en cendres est donnée par la formule suivante :

$$T = [(M_1 - M_0) / E] * 100\%$$

Avec :

$M_1$  : masse final (creuset +cendre totale) en gramme ;

$M_0$  : masse du creuset vide en gramme ;

E : prise de la matière végétale.

### III.4.7. Détermination de la teneur en cendre sulfurique [57]

#### - Le principe

Il permet de quantifier les substances inorganiques contenues dans l'échantillon végétal.

#### - Mode opératoire

- Chauffer un creuset de porcelaine à  $600 \pm 50$  °C pendant 30 min.
- Laisser refroidir dans un dessiccateur sur du gel de silice et peser.
- Placer ensuite 1,00 g de la matière pulvérisée.
- Humecter la matière avec une quantité suffisante de  $H_2SO_4$  dilué et chauffer lentement jusqu'à carbonisation complète de la matière.

Laisser refroidir le creuset dans un dessiccateur puis peser.

- La masse du creuset de la prise d'essai est :  $S = P_0 - T$

La teneur en cendre sulfurique est donnée par la formule suivante :

$$(S \cdot 100) / p_1 (\%)$$

Avec :

S = masse de cendre sulfurique de la prise d'essai en gramme ;

$P_1$  = masse de la prise d'essai en gramme ;

T = tare du creuset en gramme ;

$P_0$  = masse du creuset après calcination en gramme.

### III.4.8 Détermination de la teneur en cendres chlorhydriques (cendres non solubles dans l'acide chlorhydrique) [55]

#### - Principe

Les cendres chlorhydriques ou cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique consistent en un résidu obtenu en faisant bouillir les cendres totales dans l'acide chlorhydrique à 10%. Leur détermination permet de mesurer la quantité de matières siliceuses, spécialement de sable qui peut souiller les échantillons mal lavés ou mal triés.

**- Mode opératoire**

- Dans un creuset ajouter au résidu obtenu lors de la détermination des cendres totales 15 ml d'eau et 10 ml d'HCL à 10%.
- Recouvrir d'un verre de montre et faire bouillir doucement pendant 10 min
- Filtrer le résidu et laver à l'eau très chaude.
- Dessécher et incinérer jusqu'au rouge sombre.
- Laisser refroidir aux dessiccations et peser dans le même creuset.

$$T = [(M_1 - M_0) / E] * 100\%$$

Avec :

$M_1$ : masse finale (creuset + cendre chlorhydrique + papier filtre) ;

$M_0$  : masse du creuset vide en gramme ;

M: masse de papier filtre ;

E: prise de métier en gramme.

**III.4.9. Détermination de l'indice de gonflement [55]****- Principe**

L'indice de gonflement est le volume, en millilitres, qu'occupe 1g de l'échantillon gonflé dans l'eau, y compris le mucilage qui y adhère. Ce paramètre confirme la présence de polysaccharides (mucilages, gommages) dans l'échantillon végétal.

**- Mode opératoire**

Dans une éprouvette graduée à bouchon rodé de 20 cm de hauteur sur 20 mm de diamètre introduire 1g de l'échantillon pulvérisé. Humecter l'échantillon avec 1 ml d'alcool ( $CHO_4$ ) et ajouter 25ml d'eau distillée.

- Agiter énergiquement tous les 10 min pendant 3h
- A la fin filtrer avec du papier filtre et mesurer la masse finale.

$$IG = (m_{initial} + m_{final}) / 2$$

### III.5. Etude phytochimique

#### - Principe [56]

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques tanins et flavonoïdes, les composés azotés en particulier les alcaloïdes.

La mise en évidence s'effectue par des tests phytochimiques réalisés généralement sur les extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou par macération à froid) ou directement sur la poudre d'échantillon à analyser.

Ils sont basés sur :

- Les essais de solubilité des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organiques de polarité différente ; l'eau, l'éthanol, l'éther d'éthylique.
- Réaction de coloration et de précipitation.

#### III.5.1. Recherche des polyphénols totaux [58]

##### - Définition

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol  $C_6H_5OH$  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) [58].

##### III.5.1.1. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes. Ces composés naturellement produits par les plantes se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines.

Ils sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les *conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée*.

Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines.

### - Principe

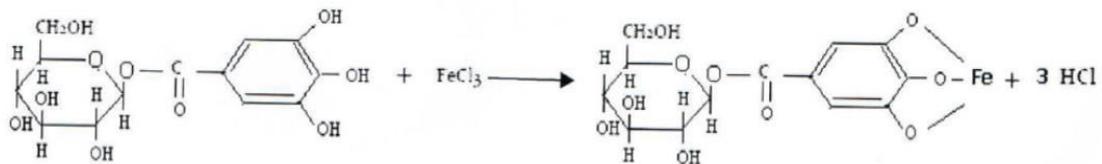
En présence de  $\text{FeCl}_3$  à 1% ; les extraits aqueux tanniques se colorent en bleu-vert, bleu sombre ; ou vert ou se forme de précipités.

### - Préparation de l'infusé [59]

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.

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 catéchiques) ou bleu noirâtre (tanins galliques).

### - La réaction caractéristique



#### III.5.1.2. 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 tannasses 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 [55]**

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 ( $\text{Fe}^{3+}$ )

**- Préparation de l'infusé [59]**

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 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ )<sub>2</sub> et 1ml de  $\text{FeCl}_3$  à 1% (1ml). Le développement d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques.

**III.5.2. 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 *Flavius* : jaune). Ils sont formés par un squelette à 15 carbones (structure en C6-C3-C6). Communément cyclisé pour former le cycle C [59].

**III.5.2.1. 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**

En présence de  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  les anthocyanes donnent une coloration

**- Préparation de l'infusé [57]**

5ml d'infusé sont ajoutés de 5ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré puis 5ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyanes.

### III.5.3. Réaction cyanhydrique (cyanidine) [60]

#### - Définition

La cyanidine est un composé organique naturel. C'est un pigment coloré relativement instable qui se rencontre rarement sous forme libre dans les tissus végétaux mais plutôt sous une forme glycosylée plus stable. Il est présent dans les fruits rouges et les pétales rouges ou bleus de beaucoup de fleurs.

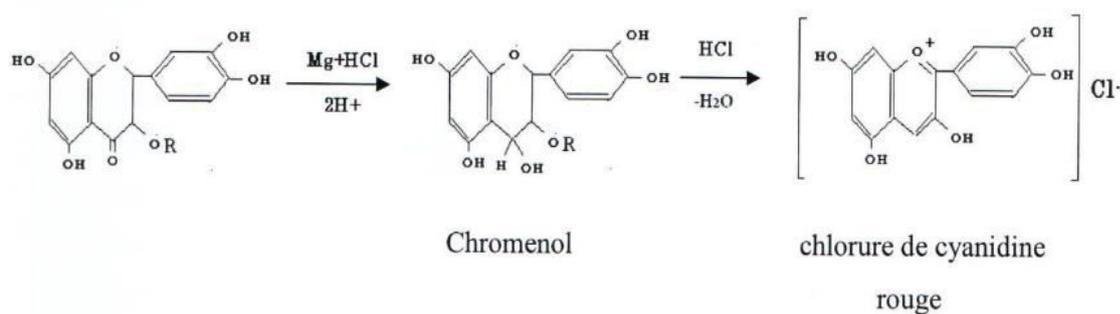
#### - Principe

En présence d'acide chlorhydrique ; et de copeaux de zinc, les flavonoïdes donnent les réactions de coloration caractéristiques.

#### - Préparation de l'infusé [57]

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'infusé et ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95%, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) puis quelques copeaux de zinc ou de magnésium et 1 ml d'alcool iso amylique. L'apparition d'une coloration : rose orangée (flavones), rose violacé (flavonones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblé dans la couche surnageant d'alcool iso amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavonoïques, négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones.

#### - Réaction caractéristique



#### - Principe

La coloration plus ou moins rouge de l'extrait chloroformique (1ml) additionné de  $NH_4OH$  dilué au demi indique la présence d'anthraquinones libres. En présence de  $NH_4OH$ , les solutions de quinones présentent une coloration plus ou moins rouge.

- **Préparation de l'extrait [57]**

À 1g de poudre, ajouter 10 ml de chloroforme et chauffer pendant 3 mn sur bain marie. Filtrer à chaud et compléter à 10 ml avec le même solvant si nécessaire.

- **Réaction de portager [57]**

À 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu, ajouter 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  diluée puis agiter. Une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

### III .5.4. Détermination des Glucosides

- **Principe [57]**

Réaction avec l'acide sulfurique sur la poudre donne une coloration rouge violette. Mettre deux gouttes de l'acide sulfurique concentré sur une masse de la poudre végétale. En présence des glucosides, la masse se colore en rouge brique, puis en violet.

- **La réaction caractéristique**



### III.5.5. Détermination des saponines [60]

- **Définition**

Le nom saponosi d'est dérivé du mot latin *sapo* qui veut dire savon, qui évoque le caractère moussant de leur solution aqueuse. Les saponosi des sont des composés, pour la plupart, très polaires et sont souvent retrouvés sous forme de mélanges complexes dans la plante. Ils possèdent en outre un large spectre de propriétés biologiques et pharmacologiques.

- **Principe**

Par agitation, une mousse persistante dont la hauteur est mesurable apparait dans les solutions de saponines.

- **Préparation du décocté [55]**

À l'aide d'une erlenmeyer de 250 ml, faire une décoction de 5g de poudre dans 50 ml d'eau distillée. Chauffer pendant 15 minutes tout en maintenant une ébullition modérée. Filtrer après refroidissement et ajuster à 50ml.

- **Formation de la mousse persistante [57]**

Introduire dans un tube à essai un 10 ml du décocté précédemment préparé. Agiter le tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde. Laisser reposer pendant 15 minutes. Noter la présence de mousse et mesurer la hauteur de la mousse dans le tube.

### **III.5.6. Détermination des hétérosides cardiotoniques [57]**

- **Principe**

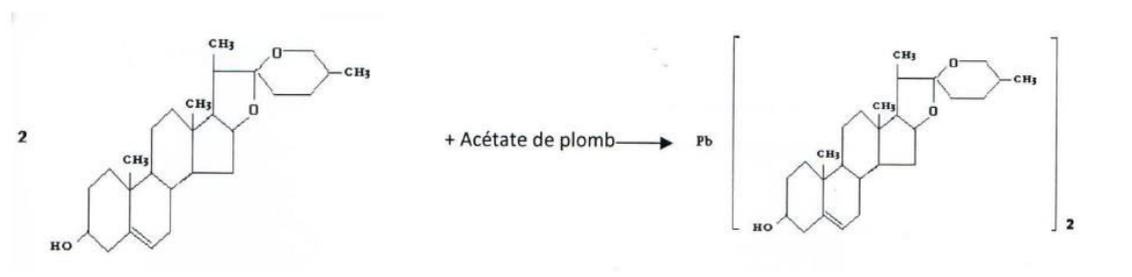
Les hétérosides donnent une coloration verte en présence de réactif de LIEBERMAN-BURCHARD.

- **Extraction**

Ajouter à 1g de poudre 10 ml d'éthanol à 60% et 5 ml d'acétate de plomb pb  $(\text{CH}_3\text{COO})_2$  à 10%. Chauffer sur bain-marie pendant 10 mn et filtrer. Agiter le filtrat avec 10ml de chloroforme sans formation d'émulsion. Laisser décanter. Puis soutirer la phase chloroformique et évaporer à sec. Reprendre le résidu avec 2 ml d'isopropanol.

- **Réaction de Liebermann Burchard [57]**

A 1 ml de l'extrait, ajouter 1/5 du volume d'anhydride acétique, puis, goutte à goutte de l'acide sulfurique concentré : il se développe d'abord une coloration rouge, ensuite bleue et enfin verte. La réaction de Liebermann n'est pas employée en général, elle est caractéristique pour les substances dérivées de la bufanolide.

**Réaction caractéristique [57]****III.5.7. les éléments réducteurs [57]****principe**

Les éléments réducteurs donnent une coloration rouge brique en présence de réactif de Fehling.

**- Préparation de l'infusé**

Verser 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans une capsule et évaporer à sec au bain marie. Ajouter au résidu 1 ml de réactif de Fehling. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des éléments réducteurs.

**III.5.8. détermination du mucilage [61]****- Définition**

Les **mucilages** sont des substances végétales, constituées de polysaccharides, qui gonflent au contact de l'eau en prenant une consistance visqueuse, parfois collante, semblable à la gélatine. Le terme désigne également une préparation élaborée à partir de mucilage ou un liquide visqueux obtenu par dissolution d'une gomme végétale dans l'eau.

**- principe [57]**

En présence de l'alcool absolu, l'apparition de flocons prouve la présence des mucilages.

**- Extraction**

Introduire 1 ml du décocté à 10 % dans un tube à essai et ajouter 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages.

### III.5.8.1. Les coumarines

#### - Définition

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo - $\alpha$ -pyron et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combinées avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin.

#### - Caractérisation

Evaporer 5ml d'extrait éthérique , obtenu par macération pendant 24h de 1g de poudre dans 20 ml d'éther dans une capsule à l'air libre. Ajouter 2ml d'eau chaude, partager la solution entre 2 tubes à essai et ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 25%. Procéder à l'observation sous UV à 366 nm : une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

-On utilisée la même manipulation pour déterminer les composants physicochimiques de datte et de betterave

### III.6. Protocole de l'extraction du jus (substrat)

#### III.6.1. Protocole de l'extraction du jus de datte

Le jus de datte est préparé par la méthode citée par Boudjelal et Nacib(2001) :

- Laver et dénoyauter les dattes soigneusement ;
- Additionner d'eau à raison de 2l/Kg de pulpes ;
- Chauffer le mélange (2 kg de datte plus 4l d'eau distillée) à 80°C pendant 2h ;



Figure III.2 : Préparation du jus de dattes

- Centrifuger l'extrait obtenu à 5000 r.p.m pendant 30m pour séparer les débris cellulosiques



**Figure III.3 : Filtration du jus avec une compresse**

### **III.6.2. Protocole1 de l'extraction de jus de betterave**

- Laver les gossettes de betterave afin de les débarrasser de la terre et des herbes
- Découper 1.5kg de betterave sucrière en petits morceaux et les placer dans un bécber avec un volume d'eau distillée.
- Placer le mélange sur une plaque chauffante jusqu'à ce qu'il cuisine, puis mixer bien le mélange et ajouter l'eau distillé jusqu'l'obtention de 3.5l de jus.
- Filtrer le moût obtenu à travers une compresse.

### **III.6.3. Protocole de l'extraction de jus de cactus**

- Laver les cladodes de cactus afin de les débarrasser de la terre, des herbes et les épines ;
- Broyer les cladodes dans un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'un gel à raison de 500g ;
- Filtrer le moût obtenu à travers une compresse et ajouter de l'eau distillée jusqu'à un volume de 3.5l ;
- Mélanger l'aide d'un mélangeur électrique jusqu'à l'obtention d'une solution homogène puis ajouter 1 kg de saccharose ;



**Figure III.4 : Filtration du jus avec une compresse**

#### **III.6.4. Protocole de l'extraction de jus de saccharose**

- Premièrement, nous mesurons 3,5 litres d'eau distillée
- Puis on le chauffe un peu pour que le sucre se dissolve
- Ensuite, nous y ajoutons 1 kg de saccharose et en mélangeant bien

#### **III.7. Procédé de fermentation éthanoïque**

Pour qu'une fermentation s'effectue dans de bonnes conditions, la concentration initiale des sucres ne doit pas dépasser 300 g/l dans le milieu de culture synthétique. Cette concentration est très importante car elle conditionne le taux d'alcool en fin de fermentation [62]. Aussi, le milieu doit être supplémenté de sels minéraux pour assurer un métabolisme optimal pour les levures. La fermentation est conduite en anaérobiose pendant 15 jours. Pour suivre l'évolution de la fermentation, des mesures de la concentration de CO<sub>2</sub> et des analyses physico-chimiques et biochimiques sont effectuées. Au cours de la fermentation, nous avons donc suivi :

- L'acidité du moût à l'aide d'un pH mètre ;
- Le taux de glucose ;
- Le taux du CO<sub>2</sub> dégagé
- La biomasse

#### **III.7.1. Protocole de la fermentation alcoolique**

##### **➤ Préparation de l'inconnu (pré culture)**

Dans un erlenmeyer de 250 ml, introduire 100 ml d'eau distillée chauffée 40°C, puis ajouter 40 g de la levure. Homogénéiser bien le mélange.

### Protocole de la fermentation alcoolique

Les différentes fermentations contenant différents milieux de culture synthétiques à savoir le jus de betterave, le jus de dattes et le gel de cactus sont réalisées dans un bioréacteur d'une capacité de 5 l opérant en mode discontinu **Figure III.5**. L'agitation magnétique est assurée par un agitateur magnétique pour favoriser l'oxygénation du milieu. Un volume de 3.5 l de jus est placé dans le fermenteur.

Nous avons inoculé le fermenteur par un volume de 100 ml de pré culture. Le fermenteur a été rapidement fermé à l'aide d'un bouchon hermétique afin d'assurer les conditions anaérobiques. La fermentation commence une fois que le dégagement de CO<sub>2</sub> est observé. La quantité du CO<sub>2</sub> dégagé est alors mesurée par la méthode de déplacement de liquide voir **figure III.5**. Le temps de fermentation est fixé à 15 jours au bout duquel l'opération de distillation du mélange fermenté est élaborée afin de récupérer le bioéthanol. Des prélèvements ont été effectués pendant la durée de la fermentation pour pouvoir réaliser les différentes mesures nécessaires.



**Figure III.5. Dispositif expérimental de la fermentation alcoolique**

### III.7.2. Distillation du moût de fermentation pour la récupération du bioéthanol

Après 15 jours de fermentation, le vin de dattes (ou de betterave), (ou de cactus) obtenu est distillé afin d'extraire l'éthanol. La température de distillation est de l'ordre de 78 °C. La distillation est effectuée dans un montage classique comportant un chauffe-ballon, des colonnes de réfrigération et une ampoule de récupération de distillat (éthanol).



Figure III.6. : Montage de Distillation du mélange

## II.8. Techniques analytiques et aspect du substrat

Le jus des matières premières (betterave, dattes et cactus) produit doit être caractérisé à partir de ses propriétés physicochimiques pour se rendre compte de son aptitude à la biotransformation. Parmi ces paramètres nous citons : le pH et le taux des sucres totaux.

### III.8.1. Aspect du substrat

Pour une bonne élaboration du procédé de fermentation, le jus utilisé doit être sirupeux et visqueux. Sa couleur diffère selon la nature de la matière première à partir de laquelle il a été extrait.

### III.8.2. Mesure du pH

La détermination du pH, est essentielle pour le contrôle du goût, avant et au cours de la fermentation. Sa variation nous renseigne sur l'activité métabolique de la levure au cours la transformation des sucres en alcool. La détermination du pH s'effectue par un pH-mètre

### III.8.3. Dosage des sucres réducteurs

→ Verser dans un erlenmeyer de 100 ml, quelques billes de verre et 5 ml de liqueur de Fehling. (On peut éventuellement ajouter 10mL d'eau).

→ Amener la liqueur de Fehling à ébullition à l'aide d'un bec électrique ou d'un agitateur magnétique chauffant.

→ Verser doucement, sans arrêter l'ébullition, la solution sucrée jusqu'à disparition de la coloration bleue (sans apparition de la coloration jaune). → Soit V le volume en ml versé.

### III.8.4. Mesure de la pression du CO<sub>2</sub>

Le CO<sub>2</sub> résultant de la fermentation suite à la dégradation des sucres présents dans le substrat peut être mesuré. La méthode utilisée dans le présent travail est la détermination de la pression du gaz par déplacement de liquide. La figure III.5 montre le montage permettant

d'effectuer la mesure de la pression du  $\text{CO}_2$ . Le fermenteur est relié par l'intermédiaire d'un tube à un erlenmeyer rempli d'eau de robinet. Ce dernier est à son tour relié par un deuxième tuyau à un récipient vide. Le  $\text{CO}_2$  produit dans le fermenteur entre dans l'erlenmeyer en exerçant une pression qui va chasser une quantité d'eau proportionnelle à cette pression. Cette quantité d'eau récupérée dans le deuxième récipient a un volume équivalent à la pression de  $\text{CO}_2$  libéré. Pour une bonne mesure, le système doit être étanche.

*Chapitre IV*  
*Résultats et discussion*

### IV.1. Introduction

Ce chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus dans le cadre de ce travail. Nous interpréterons et nous discuterons chaque résultat afin de valoriser ce projet. Les points présentés ici concernent :

- Les caractéristiques physicochimiques du matériel végétal utilisé comme matière première ;
- Etude phytochimique du matériel végétal utilisé ;
- Les paramètres cinétiques de la croissance microbienne sont calculés ;
- La productivité de l'opération sera également présentée et discutée.

### IV.2. Caractérisation physicochimique du matériel végétal utilisé comme matière première

Les analyses physicochimiques, des différentes plantes étudiées, *les betteraves*, *Opuntia ficus indica* et *les dattes*, 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, de leur teneur en minéraux ainsi que leur indice de gonflement.

#### a) Les betteraves

Les résultats de la caractérisation physicochimique des betteraves sont rassemblés dans le tableau IV.1.

**Tableau IV.1: Propriétés physicochimiques des betteraves**

<b>pH</b>	<b>6,63</b>
<b>Le taux d'humidité</b>	<b>96,5%</b>
<b>La matière sèche</b>	<b>3,5%</b>
<b>Le taux des minéraux (les cendres)</b>	<b>72%</b>
<b>Le taux des cendres sulfuriques</b>	<b>10,96%</b>
<b>Indice de gonflement</b>	<b>0,50</b>

Nous remarquons d'après le tableau ci-dessus que les betteraves possèdent une valeur de pH légèrement acide, une forte teneur en eau et un taux de matière sèche de 3,5%. Aussi, le tableau montre que les minéraux se présentent à une valeur de 72% avec 10,96% des cendres sulfuriques et un indice de gonflement de 0,508. Ce dernier nous permet de déceler la présence des polysaccharides (mucilages, gommages) dans le végétal.

En effet, il est possible d'avoir des pertes de certains sels par volatilisation lors de l'incinération de l'échantillon ce qui fait que le traitement des cendres par l'acide sulfurique permet aux sels et aux oxydes de se transformer en sulfate.

#### b) Cladodes *d'Opuntia ficus-indica*

Le tableau IV.2 résume les résultats obtenus

**Tableau IV.2: Propriétés physicochimiques des cladodes *d'Opuntia ficus-indica***

<b>pH</b>	<b>4,13</b>
<b>Le taux d'humidité</b>	<b>92,68%</b>
<b>La matière sèche</b>	<b>7,32%</b>
<b>Le taux des minéraux (les cendres)</b>	<b>42%</b>
<b>Le taux des cendres sulfuriques</b>	<b>7,32%</b>
<b>Indice de gonflement</b>	<b>1,1</b>

Le tableau montre une valeur de pH acide, une richesse des cladodes *d'O. ficus-indica* en eau par une valeur de 92,68% et un taux de matière sèche de 7,32%. Ces résultats ont été élaborés également dans de nombreux travaux dont les valeurs trouvées sont : 4,64 pour la valeur de pH [63], 95,76 % pour le taux d'humidité et 4,24% pour la matière sèche [64]

Quant aux valeurs de la matière minérale, nous remarquons un taux important de 42% avec 7,32 % des cendres sulfuriques. Ces résultats sont différents à ceux obtenus par Djilali, 2018 qui a

donné une teneur en cendres totales de 30,83 % et un taux important de cendres sulfuriques de 45,27 %. Cette différence pourrait s'expliquer par la période saisonnière de récolte et au stade de croissance de la plante.

Les résultats de l'indice de gonflement indiquent une valeur de 1,1 beaucoup inférieure à 10, ce qui montre la présence d'une faible quantité de mucilages dans les raquettes de figue de barbarie.

### c) Les dattes

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau IV.3: Propriétés physicochimiques des dattes**

<b>pH</b>	<b>4,71</b>
<b>Le taux d'humidité</b>	<b>1,5%</b>
<b>La matière sèche</b>	<b>98,5%</b>
<b>Le taux des minéraux (les cendres)</b>	<b>26%</b>
<b>Le taux des cendres sulfuriques</b>	<b>33,31%</b>
<b>Indice de gonflement</b>	<b>1,034</b>

Le tableau IV. 3 illustre une valeur de pH acide, un faible taux d'humidité de 1,5% et une teneur importante en matière sèche (98,5%). Nous remarquons également, un taux de cendres de 26% avec 33,31% des cendres sulfuriques. Quant à l'indice de gonflement, il est très faible (1,034).

Les travaux de Sofien Chenit, 2017, ont démontré un pH acide qui tourne aux alentours de 4,9 pour le sirop de dattes. D'après le même auteur, cette valeur peut être due à la présence d'une quantité élevée d'eau dans le sirop, ce qui permet d'entraîner les acides préexistants de la datte vers son extrait. Ces acides organiques (acide acétique, acide citrique) sont produits par des microorganismes tels que les levures et les moisissures qui se trouvent naturellement dans les dattes.

Il ajoute également que les dattes sont qualifiées de molles si elles dépassent un taux d'humidité de 30% et de sèches si ce taux est de moins de 10%. Les dattes sont demi-sèches ou demi-molles si le taux est compris entre 10 et 30%. Selon ce classement, les dattes utilisées dans ce travail sont sèches.

### IV.3. Etude phytochimique du matériel végétal utilisé

L'étude phytochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et /ou de précipitation, les résultats du screening phytochimique des extraits de betteraves, dattes et Cladodes d'*Opuntia ficus-indica* sont consignés dans le tableau suivant :

**Tableau IV.4. Propriétés phytochimiques des dattes, des betteraves et les Cladodes d'*Opuntia ficus-indica***

Groupes	Matériel végétal fermenté		
	Les betteraves	Cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	Les dattes
Polyphénols totaux	+	+	+
Flavonoïdes : anthocyane	+	+	+
Tanins hydrolysables	+	+	+
Quinones	+	+	+
Glucosides	-	-	-
Saponines	<b>1 cm</b>	<b>1,2 cm</b>	<b>0,9 cm</b>
Eléments réducteurs	-	-	-
Mucilage	+	+	+
Coumarines	+	+	+

(+) présence

(-) absence

**Cm : hauteur de la mousse obtenue**

A travers le tableau, nous notons que les betteraves, les dattes et les cladodes d'*Opuntia ficus – indica* renferment des polyphénols totaux, des flavonoïdes anthocyanes, des tanins hydrolysables, des quinones, du mucilage et des Coumarines. De plus, nous avons remarqué l'absence des Glucosides et des éléments réducteurs.

En effet, la contamination du végétal par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, correspondant à la mise en place de mécanismes de défense de la plante. Aussi, la teneur en polyphénol dépend de nombreux facteurs, tels que la maturité au moment de la récolte, les facteurs génétiques, les facteurs environnementaux, la transformation et l'entreposage [65]

Des travaux antérieurs sur les raquettes d'*Opuntia* ont montré sa richesse en composés nutritionnels tels que l'acide ascorbique, les saponines, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins composés, la vitamine C, les polypeptides, les acides gras, le glutathion et les huiles essentielles. Ces composants confèrent à la plante 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. [65]

#### IV.4. Fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique effectuée dans ce travail a été réalisée en mode « batch » sur milieu de culture synthétique utilisant le jus des betteraves, de cactus et des dattes comme substrat. Un milieu non enrichi à base de saccharose a été aussi fermenté afin de vérifier la pertinence d'utiliser les jus des différents sous-produits. Le suivi de la fermentation est réalisé, en effectuant des points de prélèvements de 5 ml à différents moments de fermentation. Les prélèvements sont ainsi effectués dans des tubes soigneusement annotés et conservés à -18°C en attente de dosage. Le suivi de la croissance se fait par lecture de l'absorbance des suspensions de levures, juste après le prélèvement, à l'aide d'un spectrophotomètre à 600 nm.

##### IV.4.1. Détermination des paramètres de la croissance

Les paramètres de croissance qu'on peut déterminer suite aux différentes manipulations sont la vitesse spécifique de croissance ( $\mu_{x\ max}$ ) et le temps de génération (G).

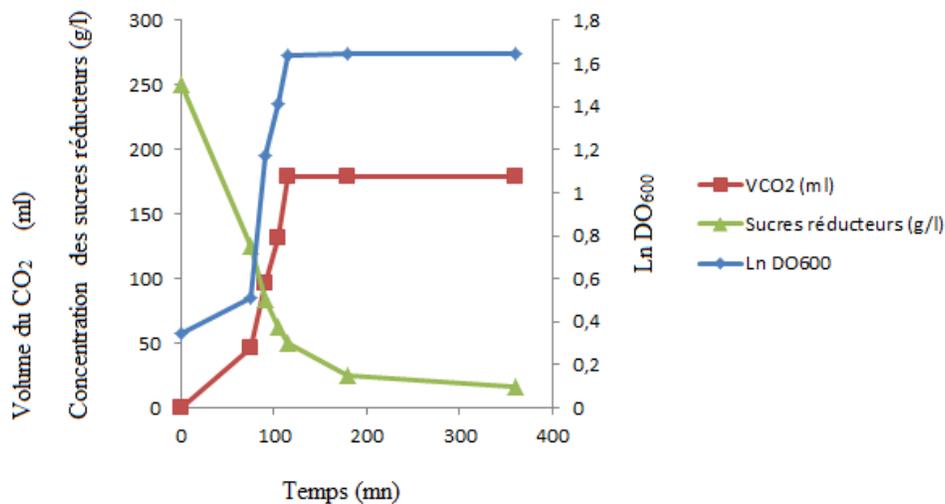
La vitesse maximale de croissance mesure l'accroissement de la population microbienne au cours de la phase exponentielle et ce dans des conditions définies dans la présente étude. Le taux de croissance  $\mu_{x\ max}$  est égal à la pente de la droite représentant la fonction  $\ln DO = f(t)$ . Les

courbes donnant cette fonction pour les différents jus testés dans ce travail sont illustrées ci-dessous.

#### IV.4.2. Fermentation des betteraves

##### IV .4.2.1. Cinétique de l'évolution de *Saccharomyces cerevisiae*, du volume de CO<sub>2</sub> et de la concentration en sucres au cours de la fermentation

Les résultats lors de cette fermentation sont présentés sur la figure IV.1.



**FigureIV.1 : Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la concentration en sucres réducteurs, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation**

Nous remarquons d'après la figure ci-dessus que la courbe de croissance de *S. cerevisiae* se caractérise par la présence de trois phases distinctes. La première phase dure moins de 75 mn correspond à la phase de latence durant laquelle nous observons une légère augmentation de la concentration de biomasse. C'est une phase pendant laquelle la souche microbienne s'adapte à la composition du milieu de culture. La vitesse de croissance est nulle. Cette phase sera réduite au maximum en fermentation industrielle. Elle peut être extrêmement courte lorsque les cellules sont jeunes de quelques heures et introduites dans un milieu neuf de fermentation. Le deuxième facteur est la composition de milieu de culture. Un inoculum cellulaire prélevé en phase

exponentielle de croissance et introduit dans un milieu neuf de composition chimique identique se multiplie instantanément sans aucune phase de latence.

La deuxième phase dite exponentielle, sa durée est plus de 40mn, durant laquelle la vitesse de croissance est exponentielle et maximale ( $\mu_{xexp}$ ).

$$\mu_{xexp} = \frac{1,63-1,16}{0,41} = \frac{0,47}{0,41}$$

Ce qui donne

$$\mu_{xexp} = 1,14 \text{ h}^{-1}$$

Le temps de génération  $G = \frac{\ln 2}{\mu_{xexp}} = \frac{\ln 2}{1,14}$  donc

$$G = 0,60 \text{ h}$$

En effet, le temps de génération est le temps nécessaire au doublement de la population. Le taux de croissance  $\mu_{xexp}$  et le temps de génération  $G$  sont les deux paramètres d'état permettant de caractériser une croissance dans des conditions expérimentales données. Le volume final de l'éthanol obtenu après la fermentation du jus de betterave est de 50 ml qui correspond à 39,45 g/l. Car 1ml d'éthanol pur est égal à 0,789 g/l selon Gares et Saidi, 2016.

Nous remarquons aussi sur la courbe que les sucres sont consommés au cours de la fermentation pour les convertir en éthanol,  $\text{CO}_2$  et biomasse. La plus grande concentration des sucres a été dégradée pendant la phase exponentielle.

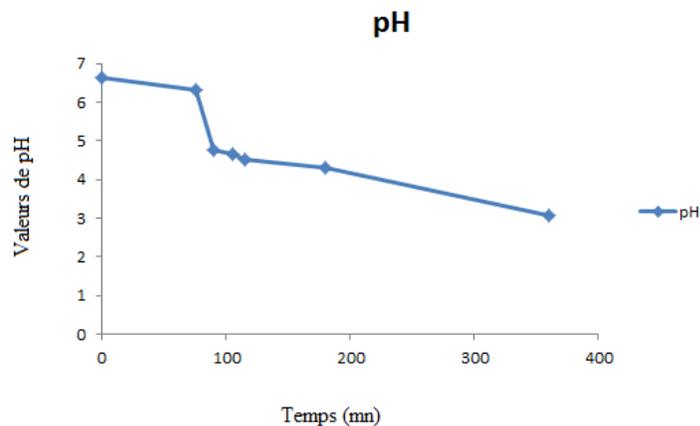
Productivité volumique horaire maximale d'éthanol :  $P_{vhg} = \frac{P_g - P_0}{t_g} = \frac{39,45}{6}$ ,

$$P_{vhg} = 6,57 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \text{ h}^{-1}$$

En fait, la productivité est la quantité de produit formé par volume de milieu et par unité de temps. C'est un critère économique majeur en industrie. Afin que le procédé soit considéré comme rentable, la production doit être maximale par une durée la plus courte possible.

#### IV.4.2.2. Cinétique de l'évolution de pH au cours de la fermentation

La courbe de l'évolution de la valeur de pH durant la fermentation est représentée dans la figure ci-dessous :



**FigureIV.2 : Evolution du pH en fonction du temps de la fermentation**

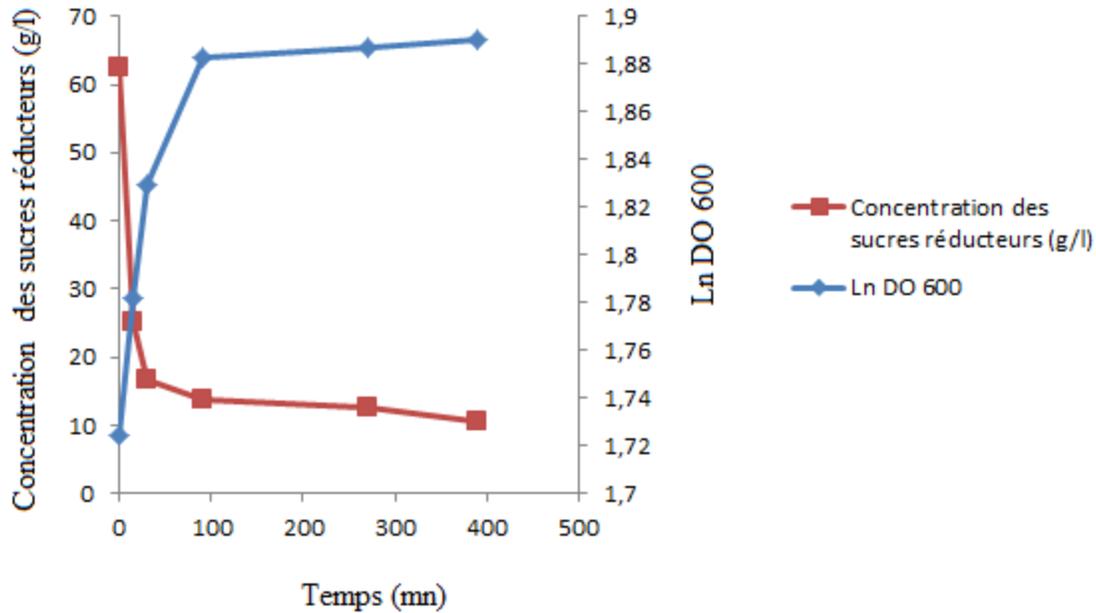
Nous constatons une baisse de la valeur de pH au cours de la fermentation. Cela est dû à la dégradation des sucres et la libération de plusieurs acides organiques qui accompagne la production de l'éthanol.

La mesure de la valeur du pH au cours des fermentations 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.

#### IV.4.3. Fermentation des cladodes *d'Opuntia ficus-indica*

##### IV.4.3.1. Cinétique de l'évolution de *Saccharomyces cerevisiae* et de la concentration en sucres au cours de la fermentation

Nous distinguons d'après la figure IV.3 que la courbe de croissance est constituée uniquement de deux phases : la phase exponentielle et la phase stationnaire. Durant cette fermentation la levure n'a pas passé par la phase de latence.



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

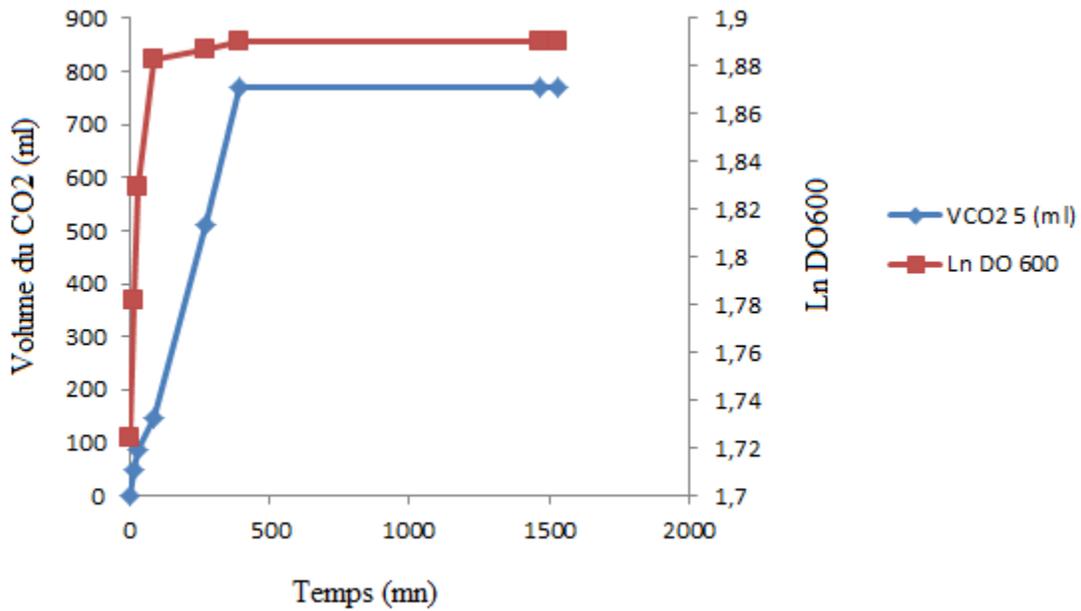
On peut donc calculer le taux de croissance  $\mu_{x \text{ exp}}$  :

$$\mu_{x \text{ exp}} = \frac{1,83-1,72}{0,5}, \mu_{x \text{ exp}} = 0,22\text{h}^{-1}$$

Ce qui donne le temps de génération est égal :  $G = \frac{\text{Ln}2}{0,22}, G = 3,15\text{h}$

#### IV .4.3.2. Cinétique de l'évolution de *Saccharomyces Cerevisiae* et du volume de CO<sub>2</sub> au cours de la fermentation

La figure IV.4 montre que le CO<sub>2</sub> se libère en même temps que la production de biomasse sachant que la libération du gaz carbonique s'accompagne avec la synthèse de l'éthanol. Ce dernier a été produit au cours de cette fermentation avec un volume de 72 ml qui vaut 56,80 g/l. Nous avons obtenu, aussi, un volume de 125ml (98, 62g/l d'éthanol) en réduisant la quantité du gel de cactus à 250 g dans 3,5 l de milieu de fermentation. L'éthanol est un métabolite primaire car il est produit en même que la croissance microbienne.



**FigureIV.4: Evolution du volume du CO<sub>2</sub>, de la biomasse en fonction du temps de la fermentation**

On calcule donc la productivité volumique horaire globale :  $P_{vhg} = \frac{56,8}{6,5}$ ,  $P_{vhg} = 8,73g \cdot l^{-1}h^{-1}$

**IV.4.3.3.Cinétique de l'évolution de pH au cours de la fermentation**

Nous notons aussi une diminution de pH de 4,1 jusqu'à une valeur de 3,2 qui traduit la production de gaz carbonique.

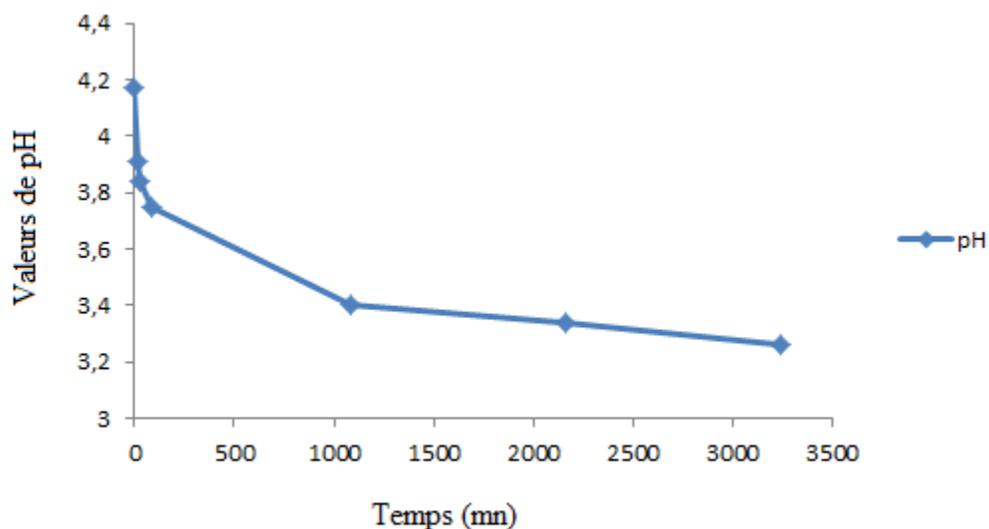


Figure IV.5: Evolution de la valeur du pH en fonction du temps de la fermentation

#### IV .4.4. Fermentation des dattes

##### IV .4.4.1. Cinétique de l'évolution du volume de CO<sub>2</sub> et de la concentration des sucres au cours de la fermentation

La courbe de production du CO<sub>2</sub> (figure IV.6) montre la présence de deux phases : La phase exponentielle et la phase stationnaire. Nous remarquons aussi la consommation des sucres au cours de la fermentation.

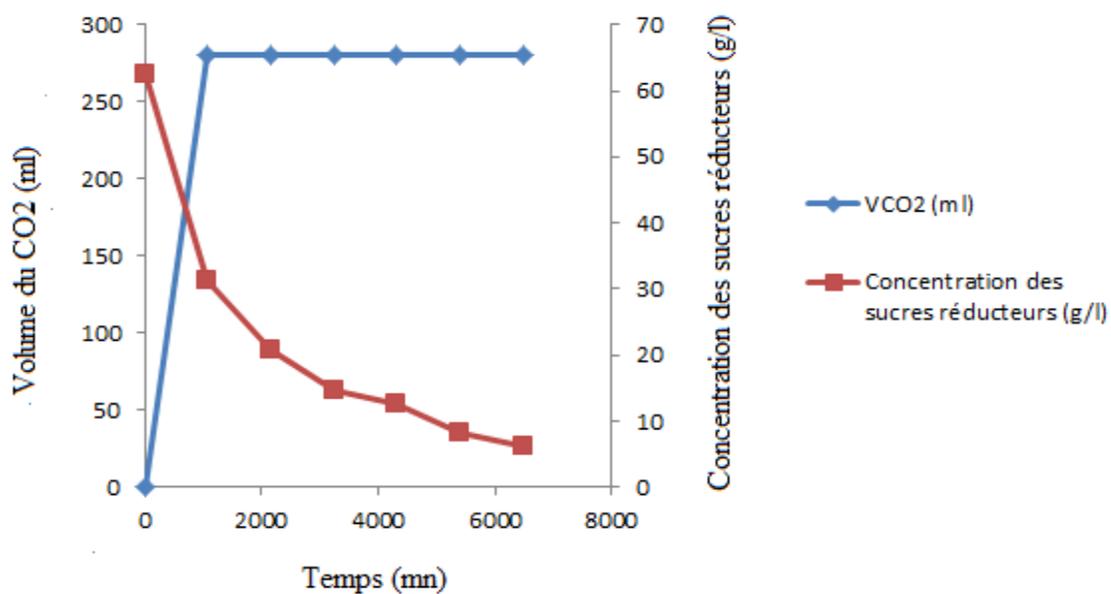


Figure IV.6 : Evolution de la concentration en sucres réducteurs et du volume de CO<sub>2</sub> en fonction du temps de la fermentation

Pour pouvoir calculer les paramètres cinétiques de cette fermentation, il est nécessaire de tracer la courbe Ln (volume du CO<sub>2</sub>) en fonction du temps. La figure ci-dessous montre le résultat obtenu.

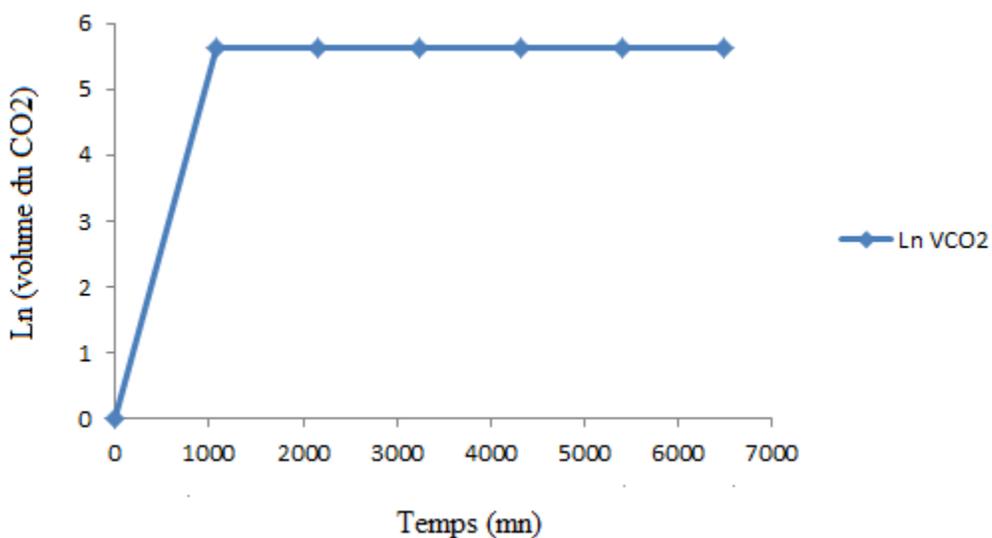


Figure. IV.7: Evolution du volume de CO<sub>2</sub> en fonction du temps de la fermentation

Le taux de croissance exponentielle  $\mu_{x\ exp} = \frac{5,63-0}{18}$ ,  $\mu_{x\ exp} = 0,31\ h^{-1}$

Le temps de génération  $G = \frac{\ln 2}{\mu_{x\ exp}} = \frac{0,69}{0,31}$ ,  $G = 2,23h$

Le volume total d'éthanol obtenu est de 75ml (59,17 g/l). On peut donc calculer la productivité volumique totale d'éthanol :  $P_{vht} = \frac{P_f - P_0}{t} = \frac{59,17}{6}$ ,  $P_{vht} = 9,86\ g\ l^{-1}h^{-1}$

#### IV.4.4.2. Cinétique de l'évolution de pH au cours de la fermentation

La baisse de la valeur de pH tend vers la valeur de 3,9.

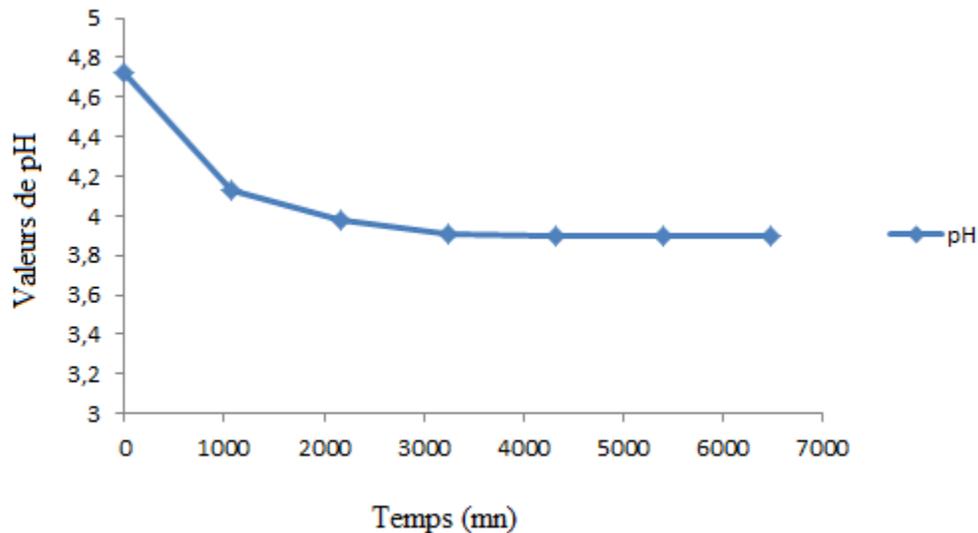


Figure IV.8 : Evolution des valeurs de pH en fonction du temps de la fermentation

#### IV.4.5. Fermentation du saccharose

##### IV.4.5.1. Cinétique de l'évolution du volume de CO<sub>2</sub> et de la concentration des sucres au cours de la fermentation

La courbe de production du CO<sub>2</sub> présente deux phases distinctes : la phase exponentielle et la phase stationnaire. La fermentation démarre sans le passage par la phase de latence. En même temps, il y a dégradation des sucres au cours de cette fermentation.

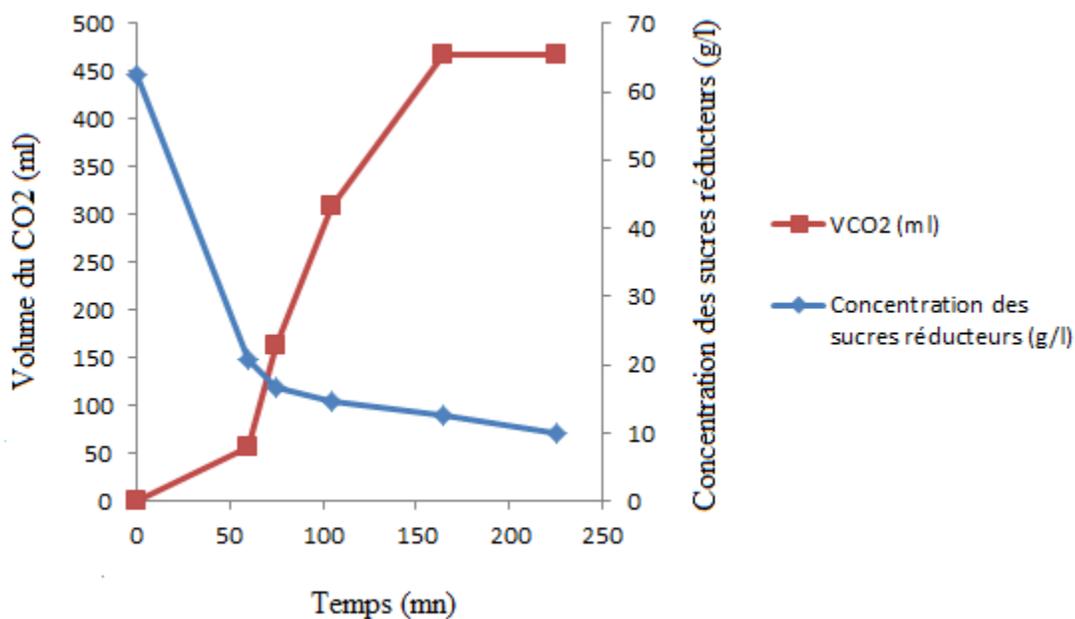


Figure. IV.9: Evolution de la concentration en sucres réducteurs et du volume de CO<sub>2</sub> en fonction du temps de la fermentation

La courbe ci-dessous nous permet de calculer les paramètres cinétiques de la phase exponentielle.

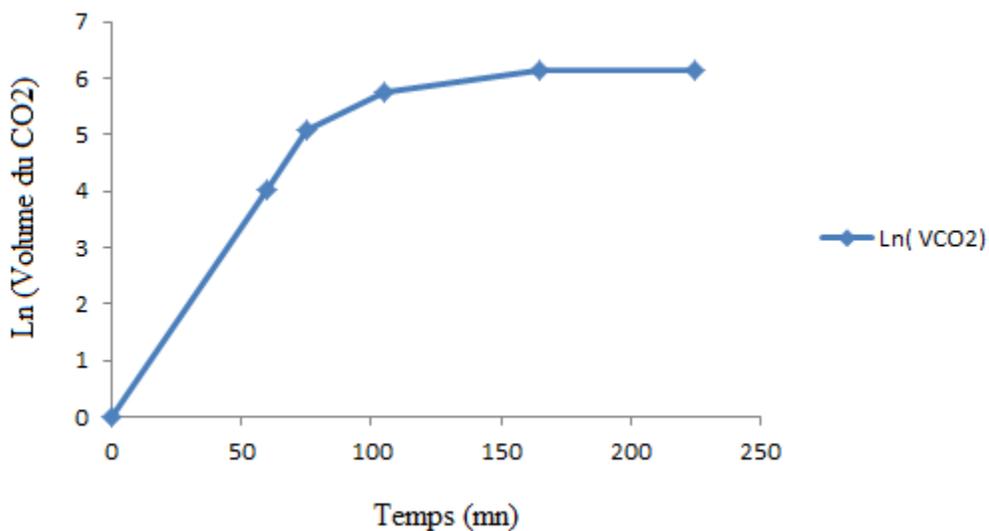


Figure IV.10: Evolution du volume de CO<sub>2</sub> en fonction du temps de la fermentation

Le taux de croissance exponentielle  $\mu_{x \text{ exp}}, \mu_{x \text{ exp}} = \frac{5,09-0}{1,25}, \mu_{x \text{ exp}} = 4,07 \text{ h}^{-1}$

Le temps de génération  $G = \frac{\ln 2}{\mu_{x \text{ exp}}}, G = \frac{0,69}{4,07}, G = 0,17 \text{ h}$

Le volume total de l'éthanol obtenu à la fin de cette fermentation est de 97 ml (76,53 g/l).

La productivité horaire totale de l'éthanol  $P_{vhg}, P_{vht} = \frac{76,53}{3,75}, P_{vhg} = 20,40 \text{ g.l}^{-1}\text{h}^{-1}$

#### IV.4.6 : Comparaison entre les différentes fermentations étudiées

Le tableau IV.5 donne les différents paramètres cinétiques calculés pour chaque fermentation.

**Tableau IV.5: Les paramètres cinétique et la productivité des différentes fermentations réalisées**

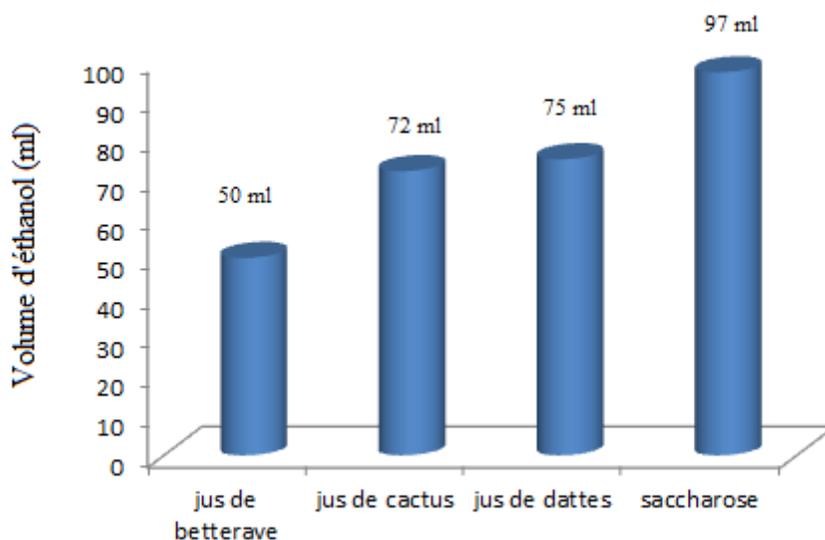
Paramètres	Betterave	Cactus	Dattes	Saccharose
Taux de croissance spécifique $\mu_{x \text{ exp}} \text{ h}^{-1}$	1,14	0,22	0,31	4,07
Temps de génération $G \text{ h}$	0,60	3,15	2,23	0,17
Productivité volumique horaire globale $P_{vhg} \text{ g.l}^{-1}\text{h}^{-1}$	6,57	8,73	9,86	20,40

Nous remarquons que la levure possède un taux de croissance le plus élevé ( $4,07 \text{ h}^{-1}$ ) dans le milieu de fermentation qui contient uniquement du saccharose. Nous notons aussi que dans ces conditions, la souche donne la meilleure productivité ( $20,40 \text{ g.l}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) et le plus grand volume d'éthanol (**voir figure IV. 11**). Par contre, l'ajout du gel de cactus au saccharose diminue la valeur de la vitesse de croissance ( $0,22 \text{ h}^{-1}$ ), la productivité ainsi que le volume d'éthanol.

Quant aux dattes, la levure se divise à une vitesse de  $0,31 \text{ h}^{-1}$ , sa productivité est de  $9,86 \text{ g.l}^{-1}\text{h}^{-1}$  et son volume d'éthanol est de 75 ml. En outre, le milieu de fermentation de betterave permet à

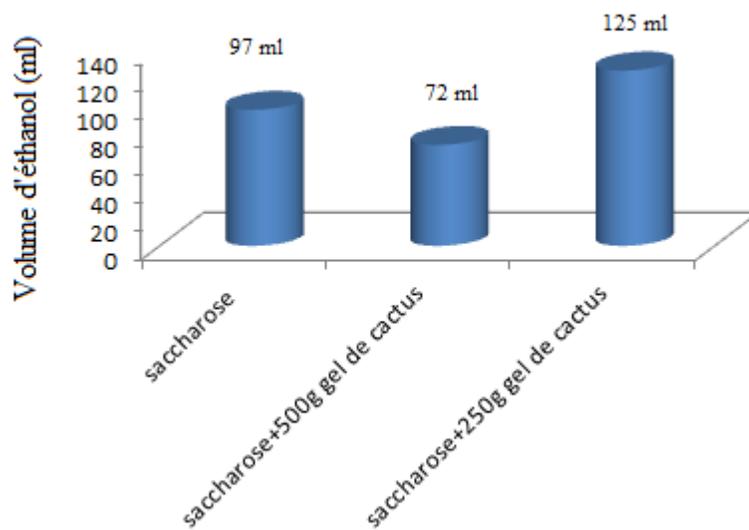
la cellule de se diviser à une vitesse de  $1,14 \text{ h}^{-1}$  avec une productivité de  $6,57 \text{ g. l}^{-1}.\text{h}^{-1}$  et un volume final d'éthanol de 50 ml.

En effet, la vitesse spécifique de croissance d'une espèce microbienne dépend étroitement du milieu dans lequel on la cultive c'est-à-dire du substrat. Ceci explique pourquoi 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.



**Figure IV.11: Volume total d'éthanol obtenu à la fin de la fermentation des différentes plantes utilisées**

Concernant le milieu simple à base du saccharose, nous avons réalisé trois expériences. Un milieu contient uniquement du saccharose, un autre milieu contient du saccharose plus 500 g du gel de cactus. Dans le troisième milieu, nous avons réduit la quantité du saccharose en 250g. les résultats obtenus sont présentés dans la figure IV. 12.



**Figure IV.12 : Volume total d'éthanol obtenu des différentes fermentations du saccharose**

Nous constatons une baisse de la production d'éthanol (de 97 à 72 ml) en ajoutant au saccharose 500 g du gel de cactus. Par contre, l'augmentation du volume (125 ml) est notée lorsque nous avons baissé la quantité du gel à 250 g.

Ces résultats sont expliqués par le fait que le cactus est riche en sucres et les composés phénoliques à savoir : glucose, fructose, acide gallique, catéchine et rutine. De plus, la présence du substrat en excès peut devenir un inhibiteur de la croissance ce qui explique l'abaissement de la production d'éthanol dans le cas du saccharose avec 500 g du cactus.

En fin, nous pouvons conclure que la concentration en éthanol obtenue au cours de ce travail est faible, qui est de 3,5% par rapport au volume du milieu de fermentation, puisque d'après Didderen et *al* [66], cette concentration doit être de l'ordre de 10%. Cependant, ces résultats semblent intéressants car la souche utilisée dans ce travail n'est pas une souche industrielle ce qui affecte directement le rendement et la productivité.

## *Conclusión general*

Le bioéthanol produit à partir de la biomasse est largement utilisé. Concernant la première génération, actuellement, est la seule utilisée à l'échelle industrielle, malgré sa concurrence directe avec l'industrie alimentaire.

Des technologies sont actuellement mises au point pour exploiter les matières cellulosiques telles que le bois, les feuilles et les tiges des plantes ou celles issues de déchets. On qualifie ces matières de biomasse lignocellulosique car elles 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.

L'objectif du projet est d'utiliser des ressources végétales pour produire du bioéthanol de deuxième génération. Ces ressources sont : la betterave sucrière, les dattes, le cactus et le saccharose. Le premier substrat utilisé, la betterave, est un bon milieu pour la levure, mais sa tolérance est légèrement inférieure. C'est une sorte de sucre complexe (saccharose) nécessite beaucoup de prétraitements pour fabriquer un saccharose accessible aux micro-organismes. Nous avons pu produire de bioéthanol à partir de ce substrat avec un volume de 50 ml qui vaut une concentration de 39.45 g/l et une productivité volumique horaire globale de 6.57 g/l.h.

Nous avons obtenu aussi des volumes de 72 ml (56.80 g/l), 75ml (59.17 g/l) et 97 ml (76.53 g/l) pour le cactus, les dattes et le saccharose, respectivement. Nous remarquons que le saccharose a donné le meilleur volume et la meilleure productivité (20.40 g/l.h). Ceci est dû à l'accessibilité du saccharose pour la levure.

Nous avons noté également une augmentation du volume d'éthanol obtenu (125 ml) en utilisant 250 g du gel de cactus avec le saccharose. Sachant que le cactus est riche en éléments minéraux qui peuvent améliorer la synthèse microbienne.

Comme perspectives, il serait intéressant de :

- ❖ Analyser les propriétés physiques, chimiques et biologiques des jus de fruits extraits de divers résidus agricoles;
- ❖ Optimiser le milieu de fermentation en déterminant le pH optimal et la concentration en sucre pouvant réduire le temps de latence ;

- ❖ Isoler d'autres micro-organismes plus efficaces qui peuvent être hydrolysés et décomposés ;
- ❖ Enfin, envisager la production de bioéthanol de troisième génération. Les procédés, encore à l'étude, s'appuient principalement sur l'utilisation de microorganismes telles que les microalgues.

## *Références bibliographiques*

## *Références bibliographiques*

- [1]: **Martin, C., Galbe, M., Wahlbom, C.F., Hahn-Hagerdal, B. et Jonsson, L.F. (2002).** Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilizing *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb Technol.* 31: 274–282.
- [2]: **Bento, A., Kanbur, R. et Leard, B. (2012).** Super- Additionality: A Neglected Force in Markets for Carbon Offsets. Discussion Paper. CEPR.
- [3]: **Rosenberger, A., Kaul, H. P., Senn, T. et Aufhammer, W. (2000).** Improving the energy balance of bioethanol production from winter cereals: The effect of crop production intensity. *Appl Energy* .68 (1): 51-67.
- [4]: **Singh, R.S. et Singh, R.P. (2010).** Production of Fructooligosaccharides from Inulin by *En doinulinases* and Their Prebiotic Potential. *Food Technol Biotechnol.* 48 (4): 435–450.
- [5]: **Yuan, W.J., Zhao, X.Q., Ge, X.M. et Bai, F.W. (2008).** Ethanol fermentation with *Kluyveromyces marxianus* from Jerusalem artichoke grown in salina and irrigated with amixture of seawater and freshwater. *J ApplMicrobiol.* 105: 2076-2083.
- [6]: **Monod, J. (1942).** Recherches sur la croissance des cultures bactériennes. Hermann & Cie, Paris, France.
- [7]: **Saïd N. (2016).** Amélioration de l'extraction des sucres de la biomasse du millet perlé Sucre et du sorgho sucre pour une éventuelle production de bioéthanol. Thèse de doctorat, Université de Laval, Québec, canada, 125 pages.
- [8]: **Saidi A. (2011).** La biomasse lignocellulosique et la bioénergie. *Bio énergie et environnement*, no21, pages 4-5.
- [9]: **Bayrakci A., Kaçar G. (2014).** Second-generation of bioethanol production from waterhyacinth and duckweed in Izmir. *Study.Renewable and Sustainable EnergyReviews*, n0 30, 306-316 pages.
- [10]: **Paillet F., Taillades G. (2013).** Les biocarburants, recherche scientifique. Université Montpellier 2, France, 18pages.
- [11]: **BNDES/CGEE Coord. (2008).** Bioéthanol de canne à sucre. Livre énergie pour le développement durable, Rio de Janeiro, BNDES-CGEE.1ere édition ,316 pages.

[12] : [www.uarga.org.com](http://www.uarga.org.com)

[13] : **Demirbas M.F. (2009).** Biorafinerie for biofuel up grading a critical review. Appl.Energy, no86, pages 151-161.

[14] : **Lestari S. et al. (2009).** Transforming triglycerides and fatty acids into biofuel. ChemSusChem, 2 (12), pages 1109-1119.

[15] : **Lorne D. (2011).** Le point sur les biocarburants progression des marchés nationaux et internationaux. IFPEN.

[16] : **France Agrimer (2011).** L'économie sucrière Campagne 2009/10, Juin 2011, Edition l'arborial

[17] : **Nag A. (2008).** Biofuelrefining and performance, Mc Graw Hill editions

[18] : **Hugues P. (2015).** Stratégies technologique et réglementaire de déploiement des filières bioénergies françaises. Thèse de doctorat, École nationale supérieure des mines de Paris, France ,265 pages.

[19] : **Julien, Riess J. (2012).** Intensification de la brique « fermentation alcoolique » des substrats betteraviers et autre substrat pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, P22Université de Toulouse. France.

[20] : **Touzi A., Azbbès N. (1988).** Avant-projet de Réalisation d'Unité de Production de Bioalcool, Rapport Intern, Lab. Biotech, Dans les Wilayas de Biskra, Adrar et Ghardaïa, Algérie. 56 pages.

[21] : **Riess J., 2012.** Intensification de la brique « fermentation alcoolique » des substrats betteraviers et autre substrat pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. France ,177pages

[22] : **Kara Ali M. (2014).** Isolement et caractérisation de souches levurienne des milieux arides productrices de l'éthanol sur différents substrats. Thèse de doctorat, Université Constantine 1, Algérie. 129 pages.

[23] : **Akbi A, (2016).** Le potentiel algérien en bio énergies. Revues des Energies Renouvelables, n014, 120-122.

[24] : **Le sucre (1999).** Documentation pédagogique. Histoire du sucre. CEDUS.

- [25] : **Volle F. (2017).** Lesbiocarburants [http://www.iutsd.univparis13.fr/iutsd/images/Developpement\\_durable/F-VOLLE Biocarburants](http://www.iutsd.univparis13.fr/iutsd/images/Developpement_durable/F-VOLLE_Biocarburants).
- [26]: **M. Balat (2010).** ‘Production of Bioethanol from Lignocellulosic Materials via the Biochemical Pathway: A Review’, *Energy Conversion and Management*, Vol. 52, N°2, pp. 858– 875.
- [27]: **Ebert, P.R, M.A. Anderson, R. Bernatzky, Alschuler et A.E. Clarke (1989).** Genetic polymorphism of self-incompatibility in flowering plante. *Cell*, vol.56, pp.255-262.
- [28] : **Ballerini D. (2002).** Production d'éthanol à partir de biomasse. *Revue L'actualité chimique*, n° 261, pages 83-87.
- [29] : **Bachmann H. (2017).** Le potentiel de la biomasse dans les pays méditerranéens. [www.europarl.europa.eu/.../pdf/energie\\_draft\\_report\\_biomasse\\_plus\\_amendments\\_fr](http://www.europarl.europa.eu/.../pdf/energie_draft_report_biomasse_plus_amendments_fr).
- [30] : **Derbali M. (2012).** Conception d'une biorafinerie de deuxième génération. Master académique. Université kasdi Marbach Ouargla. Algérie.46 pages.
- [31] : **wertz J. (2012).** Prétraitement de la biomasse lignocellulosique. *Revue rencontre de la biomasse*, n09, pages 60-62.
- [32]: **N. Sarkar, S.K. Ghosh, S. Bannerjee and K. Aikat (2012).** ‘Bioethanol Production from Agricultural Waste: An Overview, *Renewable Energy*, Vol. 37, N°1, pp. 19 – 27.
- [33]: [http://www.olympiadeschimie.fr/Concours\\_2009/Grenoble/Grenoble TP 2009](http://www.olympiadeschimie.fr/Concours_2009/Grenoble/Grenoble_TP_2009).
- [34] : **Kaidi F., Touzi A. (2001).** Production du bioéthanol à partir des déchets de dattes. *Revue Energie Renouvelable. : Production et Valorisation – Biomasse*, pages 75-78.
- [35] : **FromentinF., Dauriat A., Lucas H., Marchaud D., Sarlos G. (2000).** Caractérisation de Filière de production de bioéthanol dans le contexte helvétique. *Revue l'officeFédérale de l'énergie*, no69809, 120 pages.
- [36] : **Nguyen Thanh Dat. (2016).** « De la levure *Saccharomyces cerevisiae* par un système bio polymérique multicouche : effet sur son activité métabolique en réponse aux conditions de l'environnement ». Thèse de doctorat Université de Bourgogne.

- [37] : **Taherzadeh M.J. et Karimi K. (2007)**. Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review, *Bio resourceethnol.*, vol. 2, n°4, p. 707-738
- [38] : **INA P-G – Département AGER – 2003**.
- [39] : **Ibtissem, Fennouche (2017)**. « Production de bioéthanol à partir de résidus d’agriculture » MEMOIRE de Master de Université Badji Mokhtar- Annaba.
- [40] : **Amillastre A. (2012)**. Amélioration de la robustesse de souches de levures aux stress technologiques par une stratégie de génie microbiologique. Application à la production industrielle de bioéthanol à partir de matières premières agricoles. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France. 294 pages.
- [41] : **Zerouali Amine (2019)**. Valorisation de la mélasse de canne à sucre (raffinerie groupe Berrahel) pour la production du bioéthanol. de mémoire d’Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem
- [42] : **Revuz B. (1979)**. Microbiologie et industrie alimentaire (culture de la levure sur Mêlasse). (Ed) Lavoisier. Paris, pp 113-120.
- [43] : **Larpen J. P. Gourgoud M. (1985)**. Elément de microbiologie. Ed. Herman. Paris, 464 p.
- [44] : **Maréchale P.A. Martinez Poirier I. et Gervais P. (1999)**. The importance of the Kinetics Of application of physical stresses on the viability of microorganism: significance for minimal food processing. *Trends in food science and technology*; 10:15-20
- [45]: **Alguilera F. Peinado R. A. Millan C. Ortega J .M and Mauricio J.C. (2006)**. Relationship between ethanol tolerance (+)-ATPase activity and lipid composition of the plasma membrane indifferent win yeast strains; *Int J food Microbiol*:110-34.42
- [46]: **Ryu D.D. Kim Y.J. Kim J.H. (1984)**. Effect of air supplement on the performance of Continuons ethanol fermentation system. *Biotechonogy and Bioengineering*, 26(1), 12-16.
- [47] : **Novak M H. (2004)**. Valorisations non alimentaires des coproduits de la transformation de la Betterave sucrière. Etude menée par la Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux pour le compte de ValBiom, avec le soutien du Ministère de la Région wallonne – Direction générale de l’Agriculture. 14 pages

- [48] : **Djamel Bel Aid (2015)**. La culture de la betterave a sucre et la production du sucre en Algérie, science et technique agronomique.
- [49] : **Boucherba N. (2015)**. Valorisation des résidus agro-industriels .mémoire magister, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa, Algérie, 73pages.
- [50] : **Boulal A., Benali B., Moulai M., Touzi A. (2010)**. Transformation des déchets de dattes de la région d’Adrar en bioéthanol. Revue des Energies Renouvelables, Vol 13 N°3, pages 455 – 463.
- [51]: **Reyenes, M., Bouabidi,H, H, Piombo and Risterucci, A.M. (1994)**. Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djérid en Tunisie. Fruit ; 49(4) ,289-298
- [52] : **Arbia L., 2018**. Etude de l’effet antibactérien des extraits végétaux sur les bactéries parodontales. Thèse de doctorat. Ecole nationale polytechnique.
- [53]: **Olukayode O. Kuloyo • James C. du Preez •Maria del Prado Garcí’a-Aparicio • Stephanus G. Kilian • Laurinda Steyn • Johann Goörgens (2014)**. *Opuntia ficus-indica* cladodes as feedstock for ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae*
- [54] : **Noui, Y. (2007)**. Caractérisation physico-chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Thèse de Magister spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès
- [55] : **Adouane Selma (2015)**. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès, Mémoire Magistère, Université Mohamed Khider – Biskra.
- [56] : **Belarbi Fouzia (2010)**. Contribution à l’étude phytochimique et l’évaluation du pouvoir antioxydant des grains du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) de la région de Tlemcen, mémoire de Master, Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen.
- [57] : **Hadj Larbi Khadidja (2012)**. Etude rhéologique et bactéricide d’une pâte de dentifrice à base de siwak, Mémoire de Magister, Université M’hamed Bougara-Boumerdès.
- [58] : **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,

**[59] : D. Dehak K (2013).** Méthode d'extraction et de séparation des substances naturelles, Doctorat, Université de Ouargla, Algérie.

**[60] : Mamadou Badiaga (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Université Blaise Pascal - Clermont- Ferrand II.

**[61] : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Mucilage#cite\\_note-3](https://fr.wikipedia.org/wiki/Mucilage#cite_note-3)**

**[62]: Ould el hadj M., Cheick M., hamdi W., Sayah Z., Bouaziz S. (2012).** Étude comparative de la production d'éthanol brut à partir de trois variétés de dattes communes (dégela Beida, tacherwit et hamraya) réparties dans les différentes classes de dattes (molle, demi-molle et sèche) de la cuvette de Ouargla (Sahara septentrional est algérien).revue Algérien journal of arid environment, Vol. 2, n° 2, pages 78-87.

**[63] : Mostefaoui et sefouane (2015).** L'Effet antibactérien des polyphénols extraits à partir des plantes. Mémoire de master. UAMO, Bouira.

**[64] : Djillali S. (2018).** Préparation d'une pâte de dentifrice. Mémoire de master. UAMO, Bouira

**[65]: 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.

## **Résumé**

L'objectif recherché à travers ce travail est d'obtenir du bioéthanol en valorisant les betteraves sucrières, les dattes, le cactus et le saccharose. Il s'agit d'un processus de fermentation anaérobie utilisant des souches *Saccharomyces cerevisiae*. Nous avons obtenu 50 ml du bioéthanol à partir des betteraves et une productivité volumique horaire globale de 6.57 g/l.h.

Nous avons obtenu aussi des volumes de 72 ml (56.80 g/l), 75ml (59.17 g/l) et 97 ml (76.53 g/l) pour le cactus, les dattes et le saccharose, respectivement. En fait, le saccharose a donné le meilleur volume et la meilleure productivité (20.40 g/l.h). Ceci est dû à l'accessibilité du saccharose pour la levure. Nous avons noté également une augmentation du volume d'éthanol obtenu (125 ml) en utilisant 250 g du gel de cactus avec le saccharose. Sachant que le cactus est riche en éléments minéraux qui peuvent améliorer la synthèse microbienne.

## **Abstract**

The objective sought through this work is to obtain bioethanol by enhancing sugar beets, dates, cacti and sucrose. This is an anaerobic fermentation process using *Saccharomyces cerevisiae* strains. We obtained 50 ml of bioethanol from beets and an overall hourly volume productivity of 6.57 g / l.h.

We also obtained volumes of 72 ml (56.80 g / l), 75ml (59.17 g / l) and 97 ml (76.53 g / l) for the cactus, dates and sucrose, respectively. In fact, the sucrose gave the best volume and the best productivity (20.40 g / l.h). This is due to the accessibility of sucrose to yeast. We also noted an increase in the volume of ethanol obtained (125 ml) using 250 g of the cactus gel with sucrose. Knowing that the cactus is rich in mineral elements that can improve microbial synthesis.