

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

BADJIMOKHTAR-ANNABAUNIVERSITY
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA



جامعة باجي مختار – عنابة

Faculté des Sciences de l'Ingénierat

Département de Génie des Procédés

Spécialité : Génie des Procédés

Option: Génie chimique

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Production de bioéthanol à partir de résidus d'agriculture

Présenté par :

Ibtissem FENNOUCHE

DIRECTEUR DE MEMOIRE : M^{me} Nabila KHELLAF, Dr, Université Badji Mokhtar- Annaba

Devant le jury :

Président : Mr. ISMAIL Fadhel,

Pr., Université Badji Mokhtar-Annaba

Membre : M^{me} KHELLAF Nabila,

Dr, Université Badji Mokhtar-Annaba

Membre : Mr. KERMICHE Messaoud,

Dr, Université Badji Mokhtar-Annaba

Année: juin 2017

Dédicaces

Je dédier ce modeste travaille a tous ceux qui nous ont inondés de courage
d'estime et de patience, et pour ceux qui ont crue ont nous et pour ceux
qu'on porte envers eux un grand amour et sincère reconnaissance.

A Ma chers maman honorable aimable tu représente pour moi le symbole de
bonté par excellence, source de tendresse l'exemple de dévouement

A mon cher papa mon archétype signe de noblesse qui ma soutenu, tout au
long de ma vie

Soyez honoré par ce par se travaille et que dieu vous garde

A mes chères sœurs soumeya et wided Et a mes frères

Que j'aime beaucoup

A toute la promotion Génie chimique 2016/2017, je vous souhaite une bonne
continuation dans votre vie personnelle et professionnelle

Remerciements

Ce travail a été réalisé au département de génie des procédés d'Annaba, il

n'aurait pas pu voir le jour sans de nombreuses personnes

Que je voudrais remercier

Mes plus vifs remerciements s'adressent à mon encadreur Madame Nabila khellaf pour m'avoir donnée l'occasion de réaliser ce travail sous sa direction, pour son amabilité, sa gentillesse, pour son soutien continu et pour avoir cru en moi même dans les moments les plus difficiles. Je ne trouverai jamais les mots les plus appropriés pour exprimer la reconnaissance que je lui porte pour tous ses précieux conseils, pour ses encouragements et pour toutes les fois qu'elle a trouvé le temps nécessaire pour m'écouter.

J'exprime ma profonde reconnaissance, et un grand remerciement à monsieur le professeur ISMAIL Fadhel Pour l'honneur qu'il m'a fait d'accepter de présider le jury de ce mémoire.

Monsieur KERMICHE Messaoud trouve ici l'expression à mes plus vifs remerciements pour avoir accepté de participer au jury de soutenance

Par ailleurs, je voudrais également adresser de profond remerciement à monsieur Mohamed jarmani doctorant au département de génie des procédés que sans lui la distillation n'aurait pas pu être effectuée

Et au département biochimique qui m'a permis d'effectuer des observations microscopique tout au long de ma recherche

Je remercie mes chers amis de l'laboratoire génie chimique, sabti wassila, mazouzi amira, laid karima, je les remercie pour leur bonne humeur, pour leur gaieté.

Je souhaite dire un grand merci a tous les enseignant du département des génies des procédé et pour de nous avoir enrichis de savoir au long des ces trois années

Plein d'amour et beaucoup de reconnaissance à mon adorable amie rouibah ikram on a vécu ensemble des moments inoubliables,

Un remerciement particulier a bencedira Selma pour les conseils qu'elle ma donnée et les informations qu'elle ma fourni dès ma présence au département, Je tiens a remercie aussi Mohammed monder bouraoui ,Meriem hamadani...

Finalement, j'adresse mes remerciements particuliers à mon cher papa et mon adorable maman et à mes sœur sousou et widoudou pour leurs amours et leur soutien inconditionnel. Je ne saurai jamais les récompenser suffisamment pour leurs efforts et pour avoir fait toujours tout le possible pour que je puisse accomplir mes rêves dont quelques uns sont vraiment futuristes et semblent être des fois irréalisables. Je les remercie pour avoir cru en moi sans cesse et pour m'avoir accompagnée jour et nuit

Un particulier remerciement a mes frères samir hamza fares

« Je vais te montrer la première lampe de poche à énergie solaire !!!!!Il ne me reste plus qu'un tout petit problème à résoudre elle ne fonctionne qu'en plein soleil »

Gaston hagaffe

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1. Différentes générations de biocarburants et les procédés de transformation pour chaque génération.

Tableau I.2. Propriétés physico-chimiques de l'éthanol.

Tableau I.3. Avantages et inconvénients des différentes ressources de biomasse.

Tableau I.4. Les trois générations de bioéthanol.

Tableau I.5. La production mondiale de bioéthanol par matière première utilisée.

Tableau I.6. Évolution des rendements des ressources agricoles en (EU).

Tableau I.7. Pays africains producteurs de bioéthanol.

Tableau I.8. Avantages et les inconvénients du bioéthanol.

Chapitre II

Tableau II.1. Différents procédés de prétraitement de la biomasse.

Tableau II.2. Produits industriels issus de bioprocédés.

Tableau II.3. les éléments nutritifs consommé par le (*saccharomyce cerevisiae*) lors de sont métabolisme fermentaire.

Chapitre III

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

Tableau III.2. Conditions de croissance de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Chapitre IV

Tableau IV.1. Caractéristiques physicochimiques des jus de betterave avant fermentation.

Tableau IV.2. Caractéristiques physico-chimiques du jus de dattes avant fermentation.

Tableau IV.3. Détermination des paramètres de croissance de *S. cerevisiae* pour les différents substrats.

Tableau IV.4. Caractéristiques physicochimiques et biochimiques des produits de fermentation en présence des jus de betteraves.

Tableau IV.5. Caractéristiques physicochimiques et biochimiques des produits de fermentation en présence des jus de dattes.

Tableau IV.6. Différents substrats utilisés pour la production du bioéthanol.

Tableau IV.7. Caractérisation du bioéthanol obtenu par distillation des différents jus (dattes, betterave).

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.1. Ressources de biomasse utilisées pour la fabrication de biocarburants.

Figure I.2. Procédé de production de bioéthanol.

Figure I.3. Distribution de la production mondiale de bioéthanol (2006).

Figure I.4. Domaines d'utilisation du bioéthanol.

Chapitre II

Figure II.1. Prétraitement schématique de la biomasse lignocellulosique.

Figure II.2. Hydrolyse du saccharose.

Figure II.3. Principe de la fermentation alcoolique du glucose par la levure (SC).

Figure II.4. Les phases de la croissance bactérienne en mode discontinu.

Figure II.5. La structure morphologique et les constituants de la levure type (*saccharomyces cerevisiae*).

Figure II.6. Technique de fermentation et hydrolyse séparées pour la biomasse lignocellulosique.

Figure II.7. Saccharification et fermentation simultanées (SFS).

Figure II.8. Schéma du procédé de distillation-rectification d'un jus fermenté.

Chapitre III

Figure III.1. Matières premières utilisées pour la production du bioéthanol : (a) Betterave, (b) Dattes.

Figure III.2. Etapes de prétraitement de la betterave sucrière.

Figure III.3. Etapes de prétraitement des dattes.

Figure III.4. Montage expérimental pour l'extraction du jus de dattes et de betterave.

Figure III.6. Dispositif expérimental de la fermentation alcoolique.

Chapitre IV

Figure IV.1. Courbe d'étalonnage du glucose obtenu à une longueur d'onde $\lambda=488$ nm

Figure IV.2. Courbe d'étalonnage de la concentration de cellules de levure à $\lambda=600$ nm

Figure IV.3. Aspect morphologique de la souche *S. cerevisiae* utilisée dans la présente étude

Figure IV.4. Levures cultivées dans un moût de dattes concentré

Figure IV.5. Courbes de croissance de *S. cerevisiae* pour les jus de betteraves à différents Brix

Figure IV.6. Courbes de croissance de *S. cerevisiae* pour les jus de dattes à différentes valeurs de Brix

Figure IV.7. Modélisation de la phase de croissance exponentielle pour *S. cerevisiae*- Détermination des vitesses de croissance maximale pour les différents substrats

Liste des sigles et abréviations

Abs :	Absorbance
ADN :	Acide Désoxyribo Nucléique
ATP :	Adénosine TriPhosphate
BLC :	Biomasse LignoCellulosique
CE :	Conseil Européen
CO₂ :	Dioxyde de Carbone
Conc :	Concentration
DO :	Densité Optique
E85 :	Mélange d'essence et d'éthanol pur dans des proportions comprises entre 0 % et 85 % en volume d'éthanol
ETBE:	Ethyle Tertio Butyle Ether
EU:	Union Européenne
FAO:	Food and Agriculture Organization of the United Nation
HMF :	Hydroxy-Méthyl Furfural
HPLC :	Haute Performance Chromatographie en phase Liquide
MS :	Matière Sèche
NAD⁺ :	Nicotinamide Adénine Di nucléotide, forme oxydée
NADH :	Nicotinamide Adénine Di nucléotide, forme réduite
OCDE :	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
SC :	Saccharomyces Cerevisiae
SFS :	Saccharification et Fermentation Simultanée
SHF :	Fermentation et Hydrolyse Séparées

Sommaire

Sommaire

Résumé/abstract	6
Introduction générale.....	7

Chapitre I. Les bioénergies : Une alternative aux énergies fossiles

I.1. Introduction.....	9
I.2. Différentes bioénergies.....	9
I.2.1. Le biogaz	9
I.2.2. Le biocarburant.....	10
a) Le biodiesel.....	10
b) Le bioéthanol.....	11
I.3. Energie de biomasse et voies de production.....	12
I.3.1. Définition de la biomasse.....	12
I.3.2. Ressources de biomasse.....	12
I.3.3. Avantages et inconvénients de la biomasse.....	13
I.3.4. Voies de production de bioénergies.....	13
a) Voie thermochimique.....	14
b) Voie biochimique.....	14
I.4. Cas du bioéthanol.....	15
I.4.1. Définition du bioéthanol.....	15
I.4.2. Générations de bioéthanol (1 ^{ère} , 2 ^{ème} et 3 ^{ème} génération).....	15
a) Le bioéthanol de première génération.....	15
b) Le bioéthanol de deuxième génération.....	16
c) Le bioéthanol de troisième génération.....	17
I.4.3. Potentiel de production mondiale en bioénergie	17
I.5. Le bioéthanol de 2 ^{ème} génération.....	18
I.5.1. Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus agricoles.....	18
I.5.2. Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus forestiers.....	18
I.5.3. Le bioéthanol de deuxième génération	

à partir de plantes saccharifères.....	19
I.5.4. Le bioéthanol à partir de plantes amylacées.....	19
I.5.5. Le bioéthanol de la deuxième génération à partir de biomasse Lignocellulosique.....	19
I.6. Projets de production de bioéthanol.....	20
I.6.1. Projets de production de bioéthanol à l'échelle mondiale.....	20
I.6.2. Projets de production de bioéthanol à l'échelle continentale.....	21
I.6.3. Projets de production de bioéthanol à l'échelle nationale.....	22
I.7. Le bioéthanol de 2 ^{ème} génération : est-il une réalité industrielle et économique ?.....	22
I.8. Les avantages et les inconvénients du bioéthanol.....	23
I.9. Domaines d'utilisation du bioéthanol.....	24

Chapitre 2 : procédé de fermentation alcoolique

II.1. Introduction.....	26
II.2. Prétraitements de la biomasse végétale.....	26
II.2.1. Définition de la biomasse végétale.....	27
II.2.2. Procédé d'Hydrolyse avec l'acide dilué.....	28
II.2.3. Procédé d'hydrolyse avec l'acide concentré.....	28
II.2.4. Procédé d'hydrolyse alcaline.....	28
II.2.5. Procédés organosolv.....	28
II.3. Description et étapes de la fermentation.....	29
II.3.1. Hydrolyse.....	29
II.3.2. Procédé de la fermentation alcoolique.....	30
II.3.3. Micro-organismes utilisés en fermentation.....	31
a) Souches microbiennes.....	32
b) Croissance microbienne.....	33
c) Paramètres de croissance.....	34
II.3.4. Définition de la levure boulangère type (<i>saccharomyces cerevisiae</i>).....	34
a) Morphologie et Structure.....	35
b) Le métabolisme fermentaire des (<i>saccharomyces cerevisiae</i>).....	35

c) Conditions de croissance.....	36
d) Les besoins nutritionnels de la levure.....	36
II.3.5. Influence des paramètres environnementaux sur la croissance (SC).....	37
a) Effet de la température.....	37
b) Effet du pH.....	37
c) Rôle d'O ₂	37
II.4. Récupération et purification des produits de fermentation.....	37
II.4.1. Récupération du bioéthanol (distillation).....	37
II.4.2. Purification du bioéthanol.....	38
II.5. Techniques de fermentation alcoolique.....	38
II.5.1. Fermentation et hydrolyse séparées.....	38
II.5.2. La saccharification et fermentation simultanée (SFS).....	39
II.5.3. Distillation du mélange eau-éthanol (purification).....	40
II.5.4. Obtention de biomolécules à grande valeur ajoutée.....	42

Chapitre III : matériels et méthodes expérimentales

III.1. Introduction.....	43
III.2. Matériels.....	43
III.1.1. Caractéristiques de la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	43
III.3. Sélection et préparation de la matière première (Betterave, dattes).....	45
III.3. 1. Matières premières et technologies de production du bioéthanol.....	45
a) La betterave.....	45
b) Les dattes.....	46
III.3.2. Protocole de prétraitement de la biomasse pour l'extraction du jus (substrat).....	46
a) Prétraitement de la betterave.....	47
b) Prétraitement de la betterave avec chaulage.....	47
c) Prétraitement des dattes.....	48

III.4. Procédé de fermentation éthanolique.....	50
III.4.1. Protocole de la fermentation alcoolique.....	51
III.4.2. Distillation du mélange-Récupération du bioéthanol.....	52
III.5. Techniques analytiques et aspect du substrat.....	52
III.5.1. Aspect du substrat.....	52
III.5.2. Mesure du Brix	52
III.5.3. Mesure du pH.....	52
III.5.4. Mesure de la matière sèche.....	52
III.5.5. Mesure de la densité.....	53
III.5.6. Dosage de l'acidité.....	53
III.5.7. Dosage des sucres totaux.....	53
III.5.8. Quantité de biomasse.....	53
III.5.9. Mesure de la pression du CO ₂	53

Chapitre IV : résultats et discussions

IV.1. Introduction.....	55
IV.2. Courbes d'étalonnage.....	55
IV.2.1. Dosage du glucose par spectrophotométrie UV-vis.....	55
IV.2.2. Densité cellulaire.....	55
IV.3. Caractérisation physicochimique des jus de betteraves et des moûts de dattes avant fermentation.....	57
IV.3.1. Propriétés physicochimiques des jus de betterave avant fermentation.....	57
IV.3.2. Propriétés physicochimiques des jus de dattes avant fermentation.....	58
IV.4. Fermentation alcoolique.....	59
IV.4.1. Aspect morphologique de la souche de levures.....	59
IV.4.2. Déroulement de la fermentation- Premières observations.....	59
a) En présence du jus de betteraves.....	59
b) En présence du jus de dattes.....	59
IV.4.3. Suivi de la croissance de <i>S. cerevisiae</i>	60

a) Courbes de croissance en présence du jus de betterave.....	60
b) Courbes de croissance en présence du jus de dattes.....	61
IV.4.4. Détermination des paramètres de croissance.....	62
IV.5. Caractérisation physicochimique et biochimique des produits de fermentation.....	64
IV.5.1. Produits de fermentation en présence des jus de betteraves.....	64
IV.5.2. Produits de fermentation en présence du jus de dattes.....	66
IV.6. Etude comparative des différents substrats utilisés avec <i>S. cerevisiae</i>	67
IV.7. Caractérisation du bioéthanol obtenu par fermentation alcoolique.....	68
IV.8. Conclusion.....	70
Conclusion générale et perspectives.....	72
Références bibliographique.....	74
Annexes.....	81

Résumé

Actuellement les possibilités de valorisation énergétique de la biomasse végétale par les procédés biotechnologiques représentent une solution de choix pour l'utilisation des produits agricoles de faible valeur commerciale afin de produire des bioénergies alternatives aux énergies fossiles. L'objectif recherché à travers cette étude est l'obtention du bioéthanol par valorisation de la betterave sucrière et des dattes communes de moindre qualité. Ceci fait appel au procédé de fermentation anaérobie en utilisant la souche de levures *Saccharomyces cerevisiae*. Les résultats de notre étude ont montré que les dattes représentaient un bon substrat pour les microorganismes contrairement à la betterave sucrière qui nécessitait un prétraitement poussé afin d'hydrolyser le saccharose en sucres fermentescibles. Des analyses physicochimiques et biochimiques ont été effectuées sur les substrats de betterave et de dattes avant et après fermentation alcoolique pour déterminer leur effet sur l'activité levurienne. Enfin après une distillation, on a pu récupérer du bioéthanol dont la qualité et la concentration variaient selon le substrat utilisé. Le moût de dattes dilué a conduit à un bioéthanol de très bonne qualité avec un rendement de production élevé.

Mots clé : Bioéthanol ; Fermentation alcoolique ; Jus de betteraves ; Moûts de dattes ; Valorisation énergétique ; *Saccharomyces cerevisiae*.

Abstract

Currently, the potential for energy recovery of plant biomass by biotechnological processes is a preferred solution for the use of agricultural products of low commercial value in order to produce bioenergy that is alternative to fossil fuels. The objective of this study is to obtain bioethanol by valorization of sugar beet and common dates of lesser quality. This involves the anaerobic fermentation process using the yeast strain *Saccharomyces cerevisiae*. The results of our study showed that dates were a good substrate for microorganisms in contrast to sugar beet which required a high pretreatment in order to hydrolyze sucrose into fermentable sugars. Physicochemical and biochemical analyzes were carried out on beet and date substrates before and after alcoholic fermentation to determine their effect on yeast activity. After distillation, it was possible to recover bioethanol, with a quality and concentration depending on the substrate nature. The diluted date substrate led to a very good quality bioethanol with a high production yield.

Key words: Alcoholic fermentation; Beet juice; bioethanol; dates substrate; Energy recovery; *Saccharomyces cerevisiae*.

Introduction générale

Le pétrole, le gaz naturel et leurs dérivés représentent 55% de la consommation mondiale d'énergie. Ce sont ces combustibles qui permettent l'existence des moyens de transport rapides et efficaces dont nous disposons aujourd'hui, ainsi que celle d'une bonne partie des activités industrielles. Ces énergies ne vont pas durer plus de quelques décennies : en tant que combustibles fossiles, leurs réserves sont limitées et la sécurité de l'approvisionnement est problématique pour de nombreux pays qui les importent ; leur utilisation est la principale source de gaz qui provoquent les changements climatiques et le réchauffement global. Il est donc nécessaire de trouver des substituts à ces combustibles.

Rien de plus rationnel que de produire une énergie à base de déchets riches en matière organique renouvelable (biomasse) qui constitue de nouvelles matières premières pour de nombreuses industries. La valorisation de la biomasse par les procédés biotechnologiques représente une solution de choix dans la mesure où elle contribue à l'élimination de la pollution que subit l'environnement et permet de produire des substances à forte valeur ajoutée en contribuant au développement industriel et agricole du pays. A la lumière de tout cela, une attention particulière doit être accordée à une meilleure gestion des déchets organiques et en particulier les sous-produits provenant des résidus d'agriculture (dattes betterave, canne à sucre, etc.). En Algérie, les cultivars de dattes sont nombreux et sont cependant très mal exploités à l'exception de Deglat Nour et à un degré moindre, Ghars, Deglat Beida et Mech Deglat qui présentent une importance économique majeure. Des milliers de tonnes de dattes restent non utilisées et peuvent dépasser les 30% de la production, soit environ 120.000 tonnes qui pourraient être valorisées (récupérées et transformées), d'après les statistiques du Ministère de l'Agriculture. Vu que les fruits et les légumes ne sont pas tous intégrés dans l'alimentation humaine quotidienne puisqu'ils peuvent avoir des couleurs, des goûts et des arômes appréciés, on cherche à trouver des alternatives pour les valoriser sans pour autant influencer l'équilibre alimentaire. Ainsi, leur utilisation en tant que matière première pour la production de bioénergies peut être une bonne alternative aux énergies fossiles.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés dans le présent projet à proposer une méthode de valorisation des résidus d'agriculture en vue de produire du bioéthanol qui peut être utilisé comme carburant dans les transports autant que l'essence. Nous avons donc opté pour les dattes algériennes de moindre qualité et avons été tentés par tester la betterave sucrière qui, très riche en saccharose peut être un bon candidat à la production de bioénergies.

Le premier chapitre de ce manuscrit est dédié à une étude bibliographique concernant les bioénergies alternatives aux énergies fossiles. Ce chapitre présente les différents types de bioénergies, leurs voies de production et leur utilisation dans divers domaines.

Dans le deuxième chapitre, nous décrivons les prétraitements de la biomasse végétale nécessaires à rendre les sucres complexes accessibles à l'hydrolyse. Nous passons en revue

Ensuite les étapes du procédé de fermentation alcoolique qui permet de transformer les sucres simples en bioéthanol. L'étape de distillation fait également partie de ce procédé. Le type de souche utilisé en tant qu'agent de fermentation est relativement décrit en détail ; il s'agit de *Saccharomyces cerevisiae* largement employée dans les procédés de fermentation.

Le troisième chapitre de ce mémoire présente les méthodes expérimentales et le matériel utilisés dans le présent projet. Les techniques analytiques, nombreuses sont évidemment exposées et illustrés par des schémas et protocoles.

Enfin, le quatrième chapitre est consacré à la présentation de tous les résultats obtenus lors cette étude. Des courbes et 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.

I.1. Introduction

Les réserves des énergies fossiles subissent de nos jours un épuisement progressif. Le pic de production pétrolière devrait avoir lieu, selon les experts, aux alentours de 2025 en tenant compte des nouvelles découvertes et aux alentours de 2035 en tenant compte de l'exploitation des pétroles non conventionnels. Aussi, le prix des carburants fossiles ne cesse d'augmenter. L'usage des carburants fossiles entraîne aussi le réchauffement climatique qui est principalement causé par l'émission de gaz à effet de serre lors de leur combustion. L'un des principaux gaz à effet de serre est le dioxyde de carbone (CO₂). L'accumulation de gaz à effet de serre dans l'environnement causée par l'utilisation de combustibles a déjà dépassé le seuil considéré « dangereusement élevé » qui est de 450 ppm équivalent CO₂. Tous ces inconvénients liés à l'utilisation des carburants fossiles ont motivé l'intérêt 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 [1].

Les bioénergies constituent une réelle opportunité pour répondre à nos besoins énergétiques qui ne cessent de croître. Elles sont considérées comme une voie prometteuse pour les énergies renouvelables surtout que les énergies fossiles commencent à se raréfier [2]. 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.

I.2. Différentes bioénergies

Les bioénergies forme un ensemble d'énergies de valorisations possibles de la biomasse: combustible chaleur (ex. le bois énergie), électricité (ex. le biogaz issu des effluents d'élevages) et carburant (ex. l'ester de colza) [3].

Pour réduire les émissions de gaz à effet de serre et notre dépendance au pétrole, il est impératif de trouver une énergie alternative. Les biocarburants sont une solution déjà utilisée mais qui doit encore évoluer [4]. On distingue deux types de bioénergies qui sont : le biogaz et le biocarburant.

I.2.1. Le biogaz

C'est un mélange de méthane combustible et de gaz carbonique ; il est issu de la fermentation anaérobie de la matière organique contenue dans les déchets. Le biogaz peut être produit spontanément, dans des conditions naturelles (marais, décharges d'ordures ménagères, etc.) ou bien dans des installations spécifiques appelées digesteurs [5].

I.2.2. Le biocarburant

C'est un combustible liquide ou gazeux utilisé pour le transport et produit à partir de biomasse. Le **Tableau I.1** représente les différentes générations de biocarburants [agro carburant = biocarburant issu de cultures agricoles] [3]. Les biocarburants peuvent être divisés en deux groupes :

a) Le biodiesel

Le biodiesel représente 27% des biocarburants dans le monde, mais plus de 77% en Europe, où il s'est fortement développé [13]. Le biodiesel est produit à partir d'huile végétale (triglycérides) par une réaction chimique avec un alcool (méthanol ou éthanol) et en présence d'un catalyseur (hydroxyde de sodium ou potassium) [6].

Tableau I.1. Différentes générations de biocarburants et les procédés de transformation pour chaque génération [22]

Génération	1 ^{ere} génération	2 ^{eme} génération	3 ^{eme} génération
Origine des substrats	grains de blé, colza, tournesol	déchets organiques, (les dattes, la betterave sucrière...)	micro algues
Procédés mis en œuvre	fermentation, tans-estérification	gazéification, hydrolyse enzymatique, méthanisation	méthanisation, gazéification, fermentation
Produit final	bioéthanol, biodiesel	bio méthane, bioéthanol, biodiesel, bio hydrogène	bio méthane, bioéthanol, biodiesel,
Rendement énergétique mtep/ha/an	1 à 4	3,5 à 5	20 à 40
Stade de maturité technologique	industriel	industrialisation à court terme	recherche pilote

b) Le bioéthanol

Le bioéthanol, une sorte d'énergie de biomasse, est un carburant de rechange pour l'essence. C'est une ressource renouvelable considérée comme une alternative aux combustibles fossiles qui s'épuisent. La production traditionnelle de bioéthanol provient principalement de sucre. Cependant, cela entraîne une concurrence entre les sources d'énergie alimentaire et la biomasse. Par conséquent, les matériaux lignocellulosique sont progressivement considérés comme des ressources renouvelables plus attrayantes pour la production d'éthanol en raison de leur disponibilité et de leur coût relativement faible [7]. Le bioéthanol est produit par fermentation du sucre provenant des cultures sucrières (canne à sucre, betteraves, blé), ou provenant des cultures contenant de l'amidon (graines). La structure de l'amidon est une longue chaîne de polymère de glucose. Ce polymère ne peut pas être fermenté directement, la structure doit d'abord être cassée en des molécules de glucoses plus petites puis dissoute dans de l'eau. Ce mélange est ensuite chauffé et traité avec une enzyme. Cette enzyme permet d'hydrolyser l'amidon en chaîne courte de glucose et est appelée amylase (enzyme digestive). La fermentation transforme alors les sucres ou l'amidon en éthanol et en dioxyde de carbone grâce à 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% [6].

Le **Tableau I.2** donne quelques caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol.

Tableau I.2. Propriétés physico-chimiques de l'éthanol [10]

Paramètre	unité	bioéthanol
Formule	/	C ₂ H ₆ 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.3. Energie de biomasse et voies de production

I.3.1. 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 [8]. 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 » [3].

I.3.2. 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 sucrière (betteraves, datte...) et de plantes lignocellulosique sont décrites ci-dessous [2].

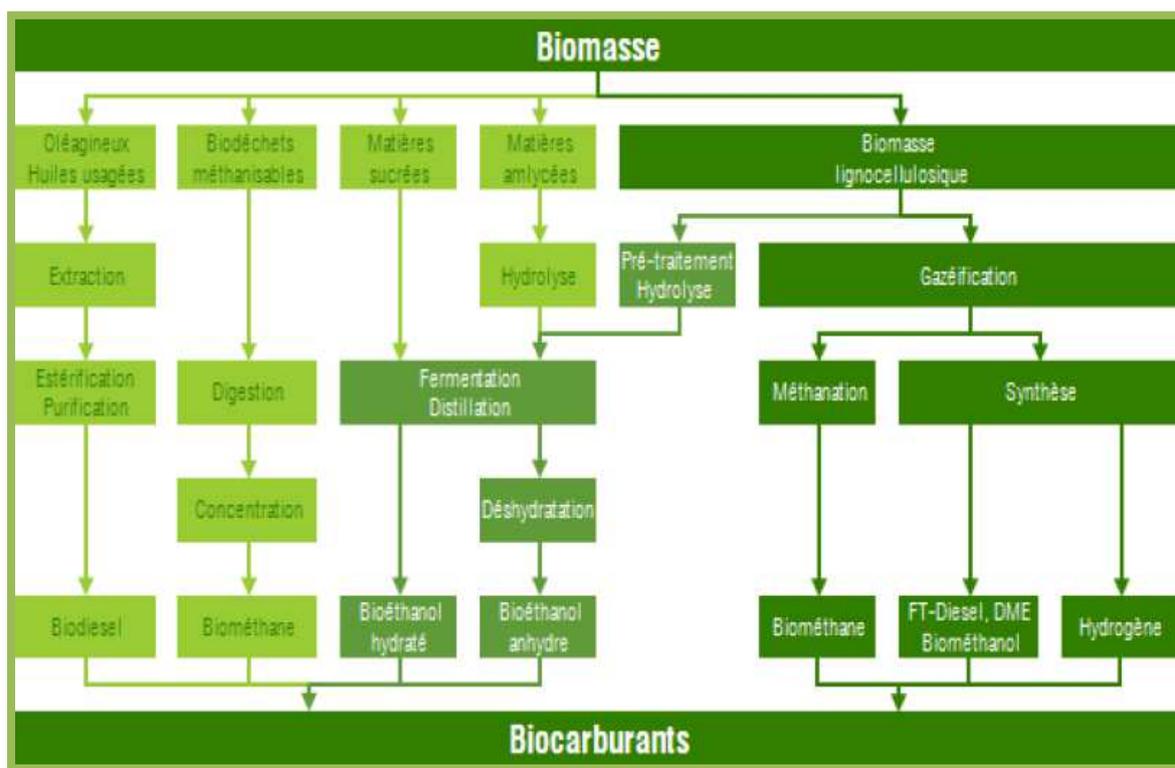


Figure I.1. Ressources de biomasse utilisées pour la fabrication de biocarburants [19]

I.3.3. Avantages et inconvénients de la biomasse

La biomasse, de par sa grande diversité animale et végétale est renouvelable et durable. Elle est donc une ressource d'énergie renouvelable, propre et respectueuse de l'environnement. Elle est transformée selon différentes voies en vue de produire de la bioénergie et des produits d'intérêt. Elle présente donc plusieurs avantages mais possède également des inconvénients ; ces derniers sont résumés sur le **Tableau I.3.**

Tableau I.3. Avantages et inconvénients des différentes ressources de biomasse [21]

Avantages	Inconvénients
La préservation des ressources de matière premières comme le pétrole brut	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.
La possibilité de la production d'énergie neutre en carbone	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.
La production de bioénergie peut améliorer la situation économique des zones rurales et freiner l'exode vers les villes	Des terres de grande valeur écologique pourraient être menacées par la promotion de la culture de plantes agricoles.
La bioénergie provenant de la sylviculture 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.	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.

I.3.4. Voies de production de bioénergies

Deux voies se dessinent pour transformer la biomasse lignocellulosique en biocarburant **Figure I.2** : la voie thermochimique et la voie biochimique [2].

a) Voie thermochimique

Les procédés thermochimiques permettent de transformer la biomasse solide et hétérogène en combustibles gazeux ou liquides plus faciles à transformer. Les produits obtenus sont les huiles de pyrolyse ou de liquéfaction et les gaz de synthèse. Ils sont utilisés, soit directement pour la production de vapeur ou d'électricité, soit converti en biocarburants liquides. Cependant, cette conversion connaît encore des difficultés techniques et économiques. Trois procédés sont utilisés : la pyrolyse, la liquéfaction directe et la gazéification [2].

- **La pyrolyse**

Est la dégradation thermique de la biomasse par chauffage en absence d'oxygène. La pyrolyse produit du charbon et des huiles qui permettent la production de biocarburants. Le gaz produit lors de cette pyrolyse est utilisé pour produire la chaleur utile pour la pyrolyse [16].

- **La liquéfaction**

Est de mettre en solution la biomasse à l'aide d'un solvant aqueux (eau). La liquéfaction se fait en général sous pression de 150 à 200 bars et se produit sous atmosphère réductrice (en présence de H₂ et de CO) [14]. En plus de la biomasse, on peut rajouter un catalyseur (les plus intéressants sont les métaux alcalins, les alcalinoterreux...) et ainsi permettre un meilleur rendement (63%) [15]. La liquéfaction transforme la biomasse en biocarburant liquide et gazeux.

- **La gazéification**

Est la transformation de la biomasse en présence d'oxygène, de vapeur d'eau et d'hydrogène. Cette technique va produire un mélange de gaz appelé gaz de synthèse (CO, CO₂, H₂, CH₄, N₂). On peut utiliser un catalyseur pour réduire la température du procédé (900 °C) [15]. En l'absence de catalyseur la transformation se déroule à haute température (1300 °C). La différence avec la pyrolyse réside essentiellement par la présence de gaz de réaction (O₂, H₂O...).

b) Voie biochimique

Le principal produit de la transformation biochimique de la biomasse lignocellulosique (BLC) est l'éthanol obtenu par hydrolyse suivie d'une fermentation éthanolique. La production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique est le bioéthanol de deuxième génération. Les procédés de production d'éthanol à partir de cette biomasse intègrent plusieurs considérations de base à savoir que :

La lignine ne peut être fermentée en éthanol.

Les fractions cellulosiques et hémicellulosiques sont des sources potentielles de sucres fermentescibles.

I.4. Cas du bioéthanol

I.4.1. Définition du bioéthanol

C'est un carburant issu de matières organiques naturelles. Il appartient à la famille des énergies renouvelables. Cet éthanol d'origine végétale n'est rien d'autre que l'alcool éthylique ; il est très inflammable, volatile et est fortement utilisé dans les boissons alcoolisées, comme solvant et comme carburant [4].

I.4.2. Générations de bioéthanol (1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération)

La production de bioéthanol (**Figure I.3**) à base de biomasse est plus durable et largement distribuée. À l'heure actuelle, il existe trois générations de bioéthanol qui ont été fondées sur différentes matières premières. Le bioéthanol se répartie en plusieurs classes comme il est indiqué dans le **Tableau I.5**.

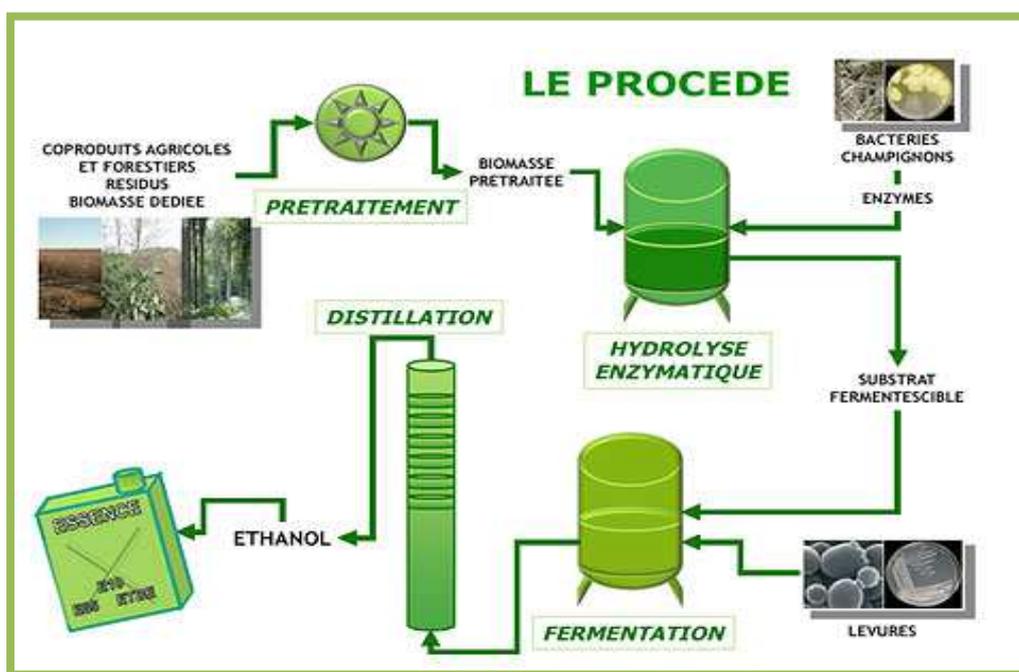


Figure I.2. Procédé de production de bioéthanol [20]

a) Le bioéthanol de première génération

Le bioéthanol de première génération est obtenu par fermentation alcoolique de sucres fermentescibles (glucose, saccharose, etc.) [17]. Ces sucres sont soit directement présents dans la plante (cane à sucre, betterave sucrière), soit obtenus après hydrolyse enzymatique de l'amidon contenu dans les grains de blé ou de maïs [18].

Cependant, le principal inconvénient du bioéthanol de première génération est la menace de limitation de l'approvisionnement alimentaire qui peut affecter la population mondiale humaine car les matières premières sont dérivées de sources alimentaires. En outre, l'utilisation des ressources alimentaires pour le carburant peut entraîner une augmentation

des prix des denrées alimentaires. D'un autre côté, il est important de préciser que la première génération de bioéthanol est économiquement déraisonnable, car les teneurs en carbone des plantes sont principalement perdues au cours du processus de conversion [11].

b) Le bioéthanol de deuxième génération

Le bioéthanol de deuxième génération, également appelé «biocarburant avancé», est produit par des matières premières lignocellulosique et des résidus de forêts agricoles. Les avantages de ces matières premières sont la facilité de disponibilité. Toutefois, l'expansion industrielle du bioéthanol de deuxième génération a connu l'obstacle dû à certains problèmes technologiques. Il s'agit du coût élevé et du rendement moyen du bioéthanol en raison de sa composition de lignine. D'autres problèmes principaux liés à la production de bioéthanol de deuxième génération sont l'exigence de technologies et d'installations de pointe [11].

Tableau I.4. Les trois générations de bioéthanol [13]

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 ₂	Contribution élevée à l'atténuation du CO ₂	Contribution élevée à l'atténuation du CO ₂
Avantages ou inconvénients	Processus de conversion relativement simple	Pas de concurrence avec la ressource alimentaire	Investissements limités et difficultés dans la conception des processus

c) Le bioéthanol de troisième génération

Les algues sont considérées comme la matière première potentielle pour la production de bioéthanol de troisième génération car la biomasse peut être convertie directement en énergie. Généralement, l'utilisation de cette matière première pour la production de bioéthanol dépend de facteurs tels que la technologie et l'environnement marin [11].

I.4.3. Potentiel de production mondiale en bioénergies

L'offre potentielle en biocarburants n'est pas une donnée absolue et statique, mais une estimation dynamique, qui dépend de scénarios géographiques, économiques et politiques évolutifs, et aussi de technologies de production et de transformation, nombre d'entre elles encore en développement. Par exemple, si les propositions de production de biodiesel à base d'algues marines se concrétisent, comment estimer leur potentiel de production? De plus, les ressources naturelles consacrées aux cultures énergétiques, comme les terres et l'eau, sont nécessairement limitées et doivent aussi être partagées avec la production d'aliments pour les personnes et les animaux, les intrants industriels (fibres textiles, bois pour la cellulose et autres finalités, etc.), la protection de la nature, parmi tant d'autres usages variés. En particulier, la complexité de cette thématique amplifie sa relation propre avec l'offre d'aliments, d'où l'importance de connaître le potentiel durable de la production, de la transformation et de l'utilisation de biocarburants. Etablir des limites à la production de biocarburants et surtout, prendre en considération les critères de durabilité, sont donc des entreprises complexes. Le secteur bioénergétique en expansion et les autres utilisations de la terre, comme la production d'aliments, la protection de la biodiversité, la conservation du sol et de la nature et la séquestration de carbone, ont été évaluées récemment par quelques études [11].

Tableau I.5. La production mondiale de bioéthanol par matière première utilisée [12]

Matières premières	Production (Millions de litres)	Part en %
Betterave sucrière	2	1,86
Canne à sucre	27	29,18
Blé	2	2,29
Mélasse	4	4,03
Céréales secondaires	47,07	51,28
Autre	7	8,06
Matières premières non agricoles	3	3,27

La production mondiale en bioénergies a débuté vers les années 1970 avec la crise du pétrole ; l'avènement de la production du bioéthanol a donc vu le jour avec utilisation de matières premières riches en amidon **Tableau I.5.** Ainsi, 47 millions de litres de bioéthanol ont été produits à partir de céréales secondaires. La canne à sucre a pris part avec 29% de

la production mondiale. Désormais, Les matières premières concurrentielles de l'alimentation humaine et animale sont de plus en plus remplacées par les algues à partir desquelles le bioéthanol de 3^{ème} génération est produit.

I.5. Le bioéthanol de 2^{ème} génération

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 [23]. En effet, les sucres contenus dans les plantes peuvent être transformés par des microorganismes en différents composés comme l'acide lactique, l'acide succinique, le dioxyde de carbone ou encore de l'éthanol. Aujourd'hui le micro-organisme le plus utilisé est une espèce de levures, *Saccharomyces cerevisiae*, à la fois pour ses performances fermentaires mais aussi pour sa valorisation en tant que coproduit.

I.5.1. Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus agricoles

Les résidus de biomasse agricole est une source qui nécessite beaucoup d'énergie pour le prétraitement, ce qui fait que cette source soit onéreuse. Le **Tableau I.6** décrit la principale biomasse agricole (EU) dont les résidus peuvent être valorisés en bioénergies.

Tableau I.6. Évolution des rendements des ressources agricoles en [9].

t/ha	2010	2020	2030	2040	2050
Betterave	96,0	101,7	107,3	113,0	118,6
Grains de maïs	9,3	10,4	11,6	12,8	14
Blé tendre	7,5	7,7	8	8,2	8,4
Triticale	5,2	5,7	6,1	6,6	7
Colza	3,3	3,5	3,7	3,8	4
Switchgrass	12	12	12	12	12
Miscanthus	14	14	14	14	14

De façon globale, les rendements des ressources agricoles sont en hausse ; ceci encourage la perspective d'utiliser les résidus d'agriculture dans la production de bioéthanol de deuxième génération.

I.5.2. Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus forestiers

La biomasse forestière représente une source d'énergie prometteuse permettant d'obtenir des combustibles solides (bûches, granulés), des combustibles liquides (bioéthanol et biodiésel) et des combustibles gazeux (biogaz). Ces produits remplaceraient avantageusement les combustibles issus du pétrole [2].

I.5.3. Le bioéthanol de deuxième génération partir de plantes saccharifères

Il s'agit là de plantes très riches en sucre ; cet ensemble peut être considéré comme un sous-groupe des résidus agricoles. La canne à sucre, avec son utilisation massive au Brésil, est la plus utilisée au niveau mondial pour la production de bioéthanol. En 2010, l'éthanol de canne à sucre représentait un tiers de la production d'éthanol au niveau mondial. Mais elle ne pousse qu'en milieu tropical. La betterave sucrière est beaucoup mieux adaptée à l'Europe et à son climat tempéré. Le sorgho sucrier provient d'Afrique, mais est adaptable au climat tempéré et présente l'avantage d'avoir des besoins réduits en eau pour se développer [23]. Les jus sucrés comme les mélasses sont directement fermentescibles en éthanol, sans avoir à procéder à des opérations préalables de saccharification. Les pulpes de betteraves sont utilisées en alimentation animale, comme une bonne partie des vinasses. Les bagasses de canne à sucre sont avant tout une source d'énergie renouvelable auxquelles les vinasses concentrées peuvent être ajoutées [24].

I.5.4. Le bioéthanol à partir de plantes amylacées

Le maïs est la plante la plus utilisée pour la production d'éthanol aux Etats-Unis d'Amérique. Cependant, cette plante, grande consommatrice d'eau, est bien moins adaptée aux étés généralement secs de l'Europe. Néanmoins d'autres plantes sont utilisables comme le blé et l'orge (moins gourmande en eau en été), la pomme de terre ou encore le manioc ; ce dernier étant particulièrement bien adapté au climat tropical. Les réserves d'amidon dans les céréales s'effectuent dans leurs graines. Celles-ci étant pauvres en eau, elles peuvent être stockées et utilisées ultérieurement. Ce n'est pas le cas pour la pomme de terre ou le manioc qui sont riches en eau et doivent donc être transformés rapidement après récolte. La composition des jus sucrés à partir d'amidon peut varier selon les procédés utilisés, selon les variétés de plantes utilisées ou encore selon les sols. En effet, l'amidon contenu dans les plantes n'est ni fermentescible ni accessible directement, il doit donc être transformé en glucose [23]. L'amidon est ensuite hydrolysé par voie enzymatique en deux étapes successives : liquéfaction à 100-105 °C avec des α -amylases, suivie de la saccharification à 50-55 °C avec l'amyloglucosidase libérant le glucose [26].

I.5.5 Le bioéthanol de la deuxième génération à partir de biomasse lignocellulosique

L'éthanol peut aussi être produit à partir de matière lignocellulosique, comme le bois, la paille, les herbacées, etc. Contrairement à l'amidon ou au saccharose qui servent de réserves d'énergie pour la plante en vue d'une utilisation ultérieure, la matière lignocellulosique sert de structure pour les plantes [23]. Elle est le constituant principal de la paroi cellulaire des plantes. Elle est aussi la source de carbone renouvelable la plus abondante de la planète [2].

Il s'agit donc d'une matière stable et résistante aux agents extérieurs et donc plus difficile à dégrader. Elle est composée principalement de lignines qui sont des composés polyphénoliques inutilisables par la levure, de cellulose et d'hémicelluloses qui sont des

composés poly-osidiques [23]. Ces trois macromolécules s'entremêlent et forment une structure tridimensionnelle complexe et très résistante, maintenue par des liaisons hydrogène et des liaisons covalentes, qui résiste aux attaques de phytopathogènes et qui confère de la rigidité aux plantes [2].

Comme pour l'amidon, la cellulose et les hémicelluloses doivent être hydrolysées avant utilisation par la levure car elle n'a pas le pool enzymatique nécessaire pour cela. Les procédés d'hydrolyse ressemblent à ceux employés pour l'amidon, ils emploient soit un traitement acide soit un traitement enzymatique. Le premier est certes peu cher mais il produit des inhibiteurs de fermentation et a un faible rendement d'hydrolyse. Le traitement enzymatique à l'inverse, est onéreux à cause du coût de l'enzyme mais il est performant et ne produit pas d'inhibiteurs [23]. Les méthodes de prétraitement répondant à ces objectifs sont le prétraitement à l'acide dilué, l'explosion à la vapeur et la thermo-hydrolyse puisqu'elles permettent de satisfaire aux objectifs fixés tout en minimisant la formation de composés de dégradation des sucres. Des recherches doivent encore porter sur l'amélioration de l'activité des enzymes, les cellulases, afin de réduire le coût de l'hydrolyse enzymatique. Un autre procédé concerne la fermentation alcoolique des pentoses qui n'est toujours pas vraiment applicable à l'échelle industrielle. Ce dernier point impose de développer de nouvelles souches capables de démontrer des performances voisines de celles démontrées sur glucose par « *Saccharomyces cerevisiae* » [24].

I.6. Projets de production de bioéthanol

I.6.1. Projets de production de bioéthanol à l'échelle mondiale

Actuellement, les plus grands producteurs mondiaux de bioéthanol se concentrent dans trois régions. En tête : les Etats Unis avec une part de 48 % de la production mondiale de biocarburants (bioéthanol) ; le Brésil avec 22 % ; l'Union Européenne avec 16 % (2012). Ces trois régions produisent, à elles seules, plus de 86 % de la production mondiale des biocarburants **Figure I.3**. Ainsi, les Etats-Unis se fixent un objectif de 36 milliards de gallons (136,27 milliards de litres) de biocarburants, dont 79,5 milliards de litres provenant de carburants de nouvelle génération. En avril 2009, le Conseil Européen a adopté la Directive 2009/28/CE16 relative à la promotion et l'utilisation des énergies renouvelables, portant ainsi l'objectif de consommation d'énergie renouvelable dans le secteur des transports à 10%. Par ailleurs, de nombreux pays prévoient d'accroître leur consommation de carburants renouvelables. D'après les projections faites par le FAO et l'OCDE, la production annuelle mondiale en 2020 devrait pratiquement doubler par rapport à la production de 2008 pour atteindre 196,87 milliards de litres [27].

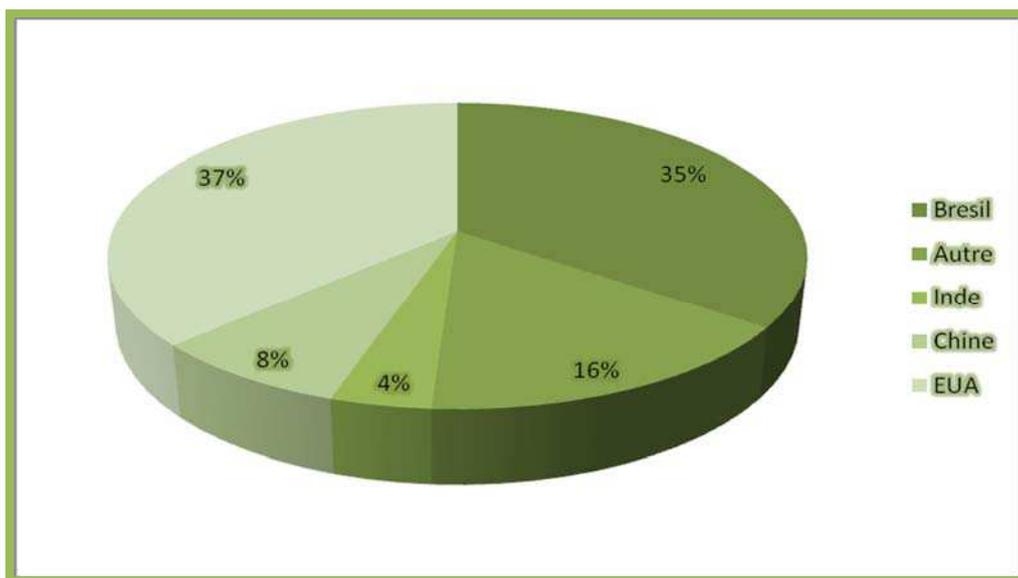


Figure I.3. Distribution de la production mondiale de bioéthanol (2006) [10]

I.6.2. Projets de production de bioéthanol à l'échelle continentale

L'Afrique peut devenir un gros producteur d'éthanol, obtenu à partir de biomasse **Tableau**

I.7. Les résidus des végétaux contenant du saccharose comme la canne à sucre, l'amidon, le maïs, le sorgho ou le manioc peuvent être transformés pour donner du bioéthanol, obtenu par fermentation du sucre extrait de la plante sucrière. Cet éthanol d'origine biologique n'est rien d'autre que de l'alcool éthylique, le même que celui que l'on trouve dans toutes les boissons alcoolisées. Il 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. C'est la raison pour laquelle les pétroliers européens préfèrent 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 [9].

Tableau I.7. Pays africains producteurs de bioéthanol

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

I.6.3. Projets de production de bioéthanol à l'échelle nationale

A l'instar d'autres pays américains et européens qui ont développé des programmes industriels intégrés pour la production d'éthanol à partir de biomasse végétale, l'Algérie, possède un potentiel considérable en déchets et sous-produits de dattes ce qui pourrait lancer un pareil programme. La production d'éthanol à partir des déchets de dattes constitue une solution intéressante sur le plan économique. Cet alcool peut remplacer avantageusement celui obtenu par voie chimique à partir des produits pétroliers et peut remplacer le pétrole léger comme carburant. 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 30 000 et 50 000 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 et les résultats obtenus ont démontré la faisabilité du procédé aussi bien sur le plan technique qu'économique [30].

I.7. Le bioéthanol de 2^{ème} génération : est-il une réalité industrielle et économique ?

Une étude récente, réalisée par des chercheurs de l'Unité de Bio-industries, a décrit les aspects fondamentaux, technologiques, économiques et environnementaux de la production de bioéthanol de deuxième génération au départ de biomasse lignocellulosique [28]. Dans les cas où le développement du marché du bioéthanol a déjà atteint la commercialisation de l'éthanol hydraté et dispose déjà d'une flotte significative [10]. Le nombre d'unités commerciales de production d'éthanol lignocellulosique a fortement progressé au cours de ces deux dernières années. Leur capacité totale atteint 350 000 t/an à fin 2014. Plusieurs autres unités sont en cours de développement et représentent une capacité supplémentaire de 137 000 t/an à court terme [29]. De nouvelles organisations territoriales voient le jour, et acquièrent une renommée internationale. Ce type de structure vise à donner une meilleure visibilité aux performances de la filière et renforcer la compétitivité à l'international afin de contribuer au développement durable au niveau régional, nationale et international.

I.8. Les avantages et les inconvénients du bioéthanol

Le bioéthanol présente de nombreuses dualités comme résumé dans le **Tableau I.8**. Sa formule chimique étant C_2H_5OH , il est qualifié de carburant oxygéné, il peut améliorer, dans le cas d'un mélange, les performances de l'essence en diminuant les problèmes de combustion à hauts régimes. L'oxygène contenu dans l'éthanol améliore la combustion du carburant, en diminuant la production de monoxyde de carbone, les quantités d'hydrocarbures non brûlés qui participent à la formation de l'ozone dans les couches inférieures de l'atmosphère et les particules émises responsables de nombreux troubles respiratoires et du noircissement des bâtiments.

Tableau I.8. Avantages et les inconvénients du bioéthanol [23]

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

* L'indice d'octane est : exprime les caractéristiques antidétonantes d'un carburant. Il correspond au pourcentage d'isooctane contenu dans un mélange d'isooctane et d'heptane normal qui lorsqu'il est utilisé pour alimenter un moteur CFR (Coopérative Fuel Research) fonctionnant dans des conditions normalisées, provoque la même intensité de détonation que l'essence testée.

** L'indice de cétane est : correspond à la capacité qu'a un carburant à s'enflammer. Il est particulièrement important pour les moteurs diesel où le carburant doit s'auto-enflammer sous l'effet de la compression. Un indice de cétane élevé facilite donc l'auto-combustion d'un carburant.

I.9. Domaines d'utilisation du bioéthanol

Le bioéthanol peut être utilisé, sous certaines conditions, comme 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. En outre, l'éthanol 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 **Figure I.4**. Il est à signaler que le plastique résulte de la polymérisation de l'éthylène et de l'ETBE mélangé à raison de 15% à l'essence, permet d'augmenter l'indice d'octane du carburant, contrairement à l'éthanol, il ne favorise pas l'évaporation des carburants et n'absorbe pas l'humidité de l'air [28].

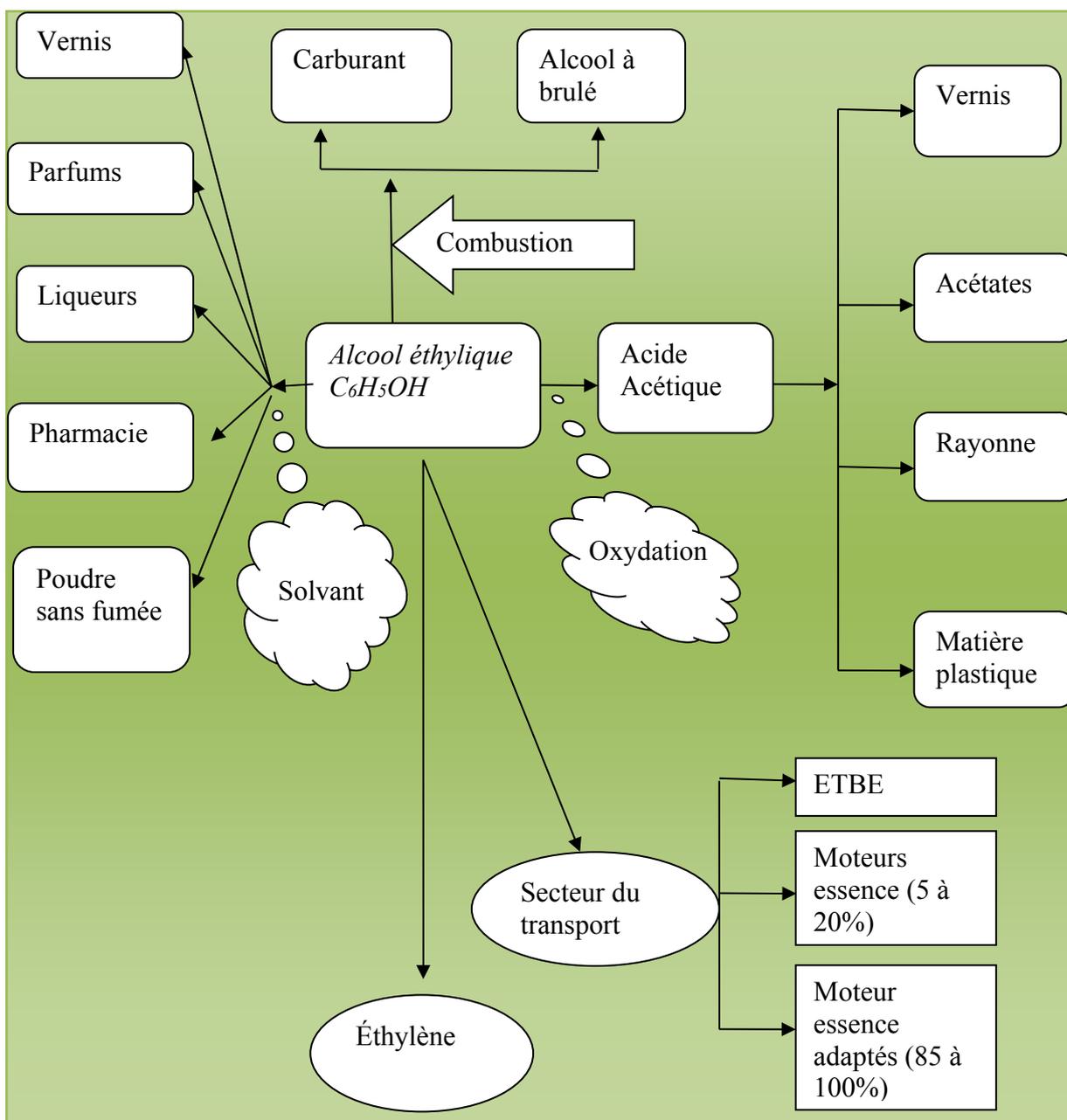


Figure I.4. Domaines d'utilisation du bioéthanol [25,28]

II.1. Introduction

La fermentation est une opération connue depuis les anciens temps. Elle a été utilisée par divers peuples (égyptiens, sumériens, Babyloniens,) pour la préparation de produits alimentaires comme le pain, les fromages, les boissons alcoolisées, etc. Actuellement, la fermentation est utilisée industriellement pour la fabrication de produits d'intérêt alimentaire (yaourts, bière), pharmaceutique (antibiotiques, vitamines, anticorps, etc.) et chimique (bioéthanol, acides gras, etc.).

La fermentation alcoolique (qui produit des alcools) consiste en une biotransformation des jus de fruits ou toute solution sucrée en vin et fait intervenir des phénomènes physiques, biochimiques et biologiques complexes. Elle consiste en la transformation par les levures, principalement *Saccharomyces cerevisiae* des sucres du moût, principalement le glucose et le fructose 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 sucres est utilisé pour la production de l'énergie et l'entretien des cellules. Par ailleurs, les méthodes moléculaires basées sur l'analyse de l'ADN sont maintenant utilisés pour identifier rapidement la levure jusqu'à son espèce [37]. Les fermentations sont des procédés multiphasiques. Ceci pose des contraintes biologiques et physico-chimiques. 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 CO₂ et l'éthanol. La partie active de la matière vivante, que constituent les protéines, 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 [23].

II.2. Prétraitements de la biomasse végétale

C'est un traitement nécessaire pour rendre la cellulose accessible à l'hydrolyse (modifier les propriétés physiques et physicochimiques de la lignocellulosique) par différentes actions. Ces actions peuvent être en fonction du type de prétraitements [42]. En plus des prétraitements physiques, thermochimiques et biologiques **Tableau II.1**, les procédés chimiques ont été largement utilisés. Ils comprennent l'hydrolyse acide, alcaline ou encore le procédé.

Tableau II.1. Différents procédés de prétraitement de la biomasse [38,10]

Type de procédés	Exemple
Procédés physiques	broyage et radiations de haute énergie
Procédés chimiques	<ul style="list-style-type: none"> - Avec des acides - Avec des bases - Avec des solvants organiques (organosolv) - Avec des agents oxydants - Avec des liquides ioniques
Procédés thermochimiques	<ul style="list-style-type: none"> - Explosion à la vapeur - Prétraitements à l'ammoniac - Explosion au CO₂ - Prétraitement mécanique/alcalin - Torréfaction
Procédés biochimiques	- Utilisation de champignons pour rendre soluble la lignine
Combinés	- Explosion de vapeur catalysée

II.2.1. 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 [31]. Cette matière doit être hydrolysée afin de la rendre accessible aux micro-organismes. Dans un premier lieu, la biomasse subit un prétraitement afin d'enlever la lignine **Figure II.1**. 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.

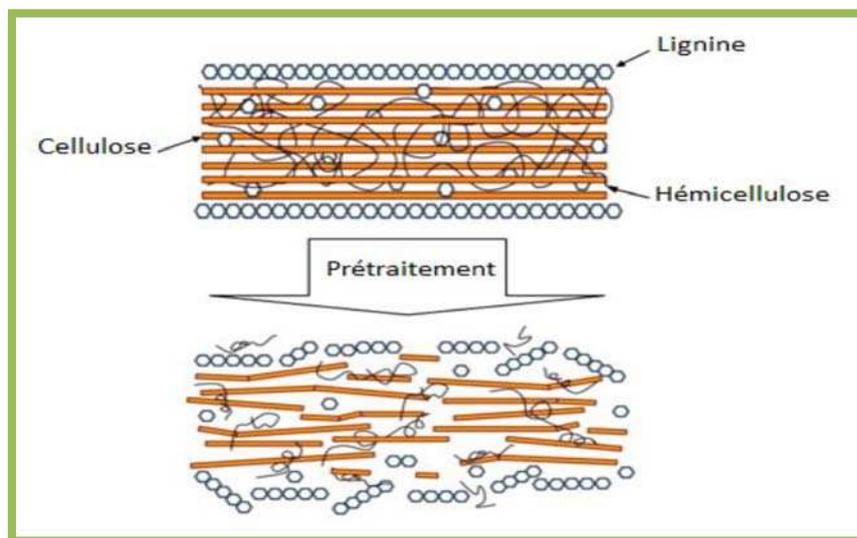


Figure II.1. Prétraitement schématique de la biomasse lignocellulosique

II.2.2. Procédé d'Hydrolyse avec l'acide dilué

C'est un procédé continu à haute température ($> 160\text{ }^{\circ}\text{C}$) pour les basses teneurs en solides. Il peut s'opérer en batch à basse température ($< 160\text{ }^{\circ}\text{C}$) pour les hautes teneurs en solides. Il est à noter que pendant cette hydrolyse, une forte élimination des hémicelluloses est obtenue [38].

II.2.3. Procédé d'hydrolyse avec l'acide concentré

Ce procédé se fait à l'aide d'agents puissants pour l'hydrolyse de la cellulose (les enzymes ne sont pas nécessaires après l'hydrolyse à l'acide fort). On assiste généralement à un haut rendement en sucres monomériques mais qui peuvent être toxiques et corrosifs [2].

II.2.4. Procédé d'hydrolyse alcaline

Procédé bien connu dans l'industrie papetière sous le nom de procédé kraft qui utilise un mélange de NaOH et Na_2S pour traiter les copeaux de bois. Le but du procédé kraft est l'élimination des hémicelluloses avec une forte élimination de la lignine [2]. Les hydrolyses basiques sont réalisées au moyen de soude, de chaux ou d'ammoniaque. Les agents alcalins sont dans la plupart des cas employés comme agents gonflants de la cellulose. Les réactifs peuvent alors s'insérer à l'intérieur des fibres de cellulose pour permettre la rupture des liaisons hydrogène. Les procédés alcalins sont principalement utilisés comme prétraitement pour s'affranchir de la lignine et de l'hémicellulose, et peu pour l'hydrolyse [32].

II.2.5. Procédés organosolv

Dans ce cas, il y a scission solvolytique des liaisons éther dans la lignine et des liaisons hémicelluloses-lignine; en milieu acide, les liaisons α -éther sont particulièrement concernées. Ce type de procédé fait diminuer la teneur de la biomasse végétale en

hémicelluloses et en lignine [2]. Les procédés Organosolv sont des procédés de mise en pâte par des solvants organiques. Ce procédé utilise peu de produits inorganiques ou aucun contrairement aux procédés Kraft, sulfites ou Soda. Il utilise à la place un mélange de solvants organiques et d'eau pour extraire la lignine et les hémicelluloses de la biomasse à de hautes températures et pressions. Les solvants organiques les plus utilisés sont des alcools lesquels sont parfois mélangés à d'autres solvants organiques. Par la suite, la lignine est isolée par précipitation acide [33].

II.3. Description et étapes de la fermentation

La fermentation éthanolique est une réaction exploitée depuis des siècles. Elle se fait grâce à l'espèce de levures *Saccharomyces cerevisiae*. D'autres levures ou bactéries peuvent également être utilisées. Cependant, l'utilisation d'un substrat formé de sucres complexes implique des difficultés spécifiques. D'une part, toutes les levures et bactéries ne peuvent pas convertir ces sucres en éthanol. D'autre part, des inhibiteurs de fermentation peuvent être formés lors de l'opération. Avant donc de commencer une fermentation on a recours au procédé d'hydrolyse qui est considérée comme un prétraitement afin de rendre la biomasse utilisée dans ce procédé accessible aux micro-organismes.

II.3.1. Hydrolyse

Le prétraitement acide de la biomasse (plantes lignocellulosique, résidus d'agriculture, algues, etc.) a reçu une attention considérable de la recherche. Les hémicelluloses sont les premiers des constituants de la biomasse à se rompre durant l'hydrolyse acide. Lorsque l'acide sulfurique est utilisé, une concentration de 0,01 M est généralement suffisante pour rompre les hémicelluloses en leurs monomères [41]. Par exemple, le saccharose présent dans cette biomasse peut ainsi être hydrolysé en glucose et en fructose en milieu acide **Figure II.2** [34]. Autrement dit l'hydrolyse c'est la décomposition du saccharose en D-glucose et D-fructose.

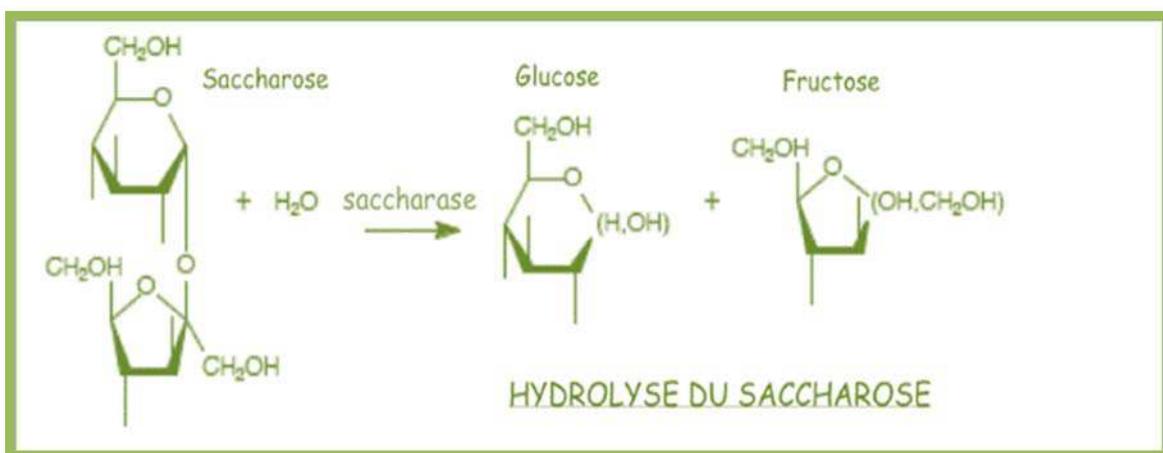


Figure II.2. Hydrolyse du saccharose [34]

II.3.2. Procédé de 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 :



La fermentation alcoolique **Figure II.3** est réalisée dans un milieu riche en sucres. Le moût est introduit dans le fermenteur puis inoculé avec le milieu de pré-fermentation. La fermentation dure de 40 à 72 heures et la température est fixée ente 28 et 30 °C [43]. Les sucres les plus abondants sont le glucose et le fructose. L'espèce de levures principalement responsable de la fermentation alcoolique est *Saccharomyces cerevisiae*. La voie métabolique utilisée pour la consommation de sucres, en condition anaérobie, qui comporte la glycolyse, produit dans cette étape deux molécules d'ATP pour une molécule de sucre consommé. Durant cette réaction, deux molécules de cofacteur NAD⁺ sont réduits en NADH. La production d'éthanol à partir du pyruvate de la glycolyse est la conséquence de la réoxydation de ces cofacteurs. Lors de la fermentation alcoolique, la macération provoque l'extraction de la couleur. La fermentation se déroule en milieu non renouvelé. La croissance de *Saccharomyces cerevisea* peut être limitée par l'accumulation de substances toxiques. Signale que les acides gras (l'acide octanoïque, decanoïque, formés par les levures, deviennent toxiques pour elle. Pour remédier à ce phénomène, une pincée de charbon était additionnée aux moûts avant ensemencement pour faciliter la reprise de la fermentation [40].

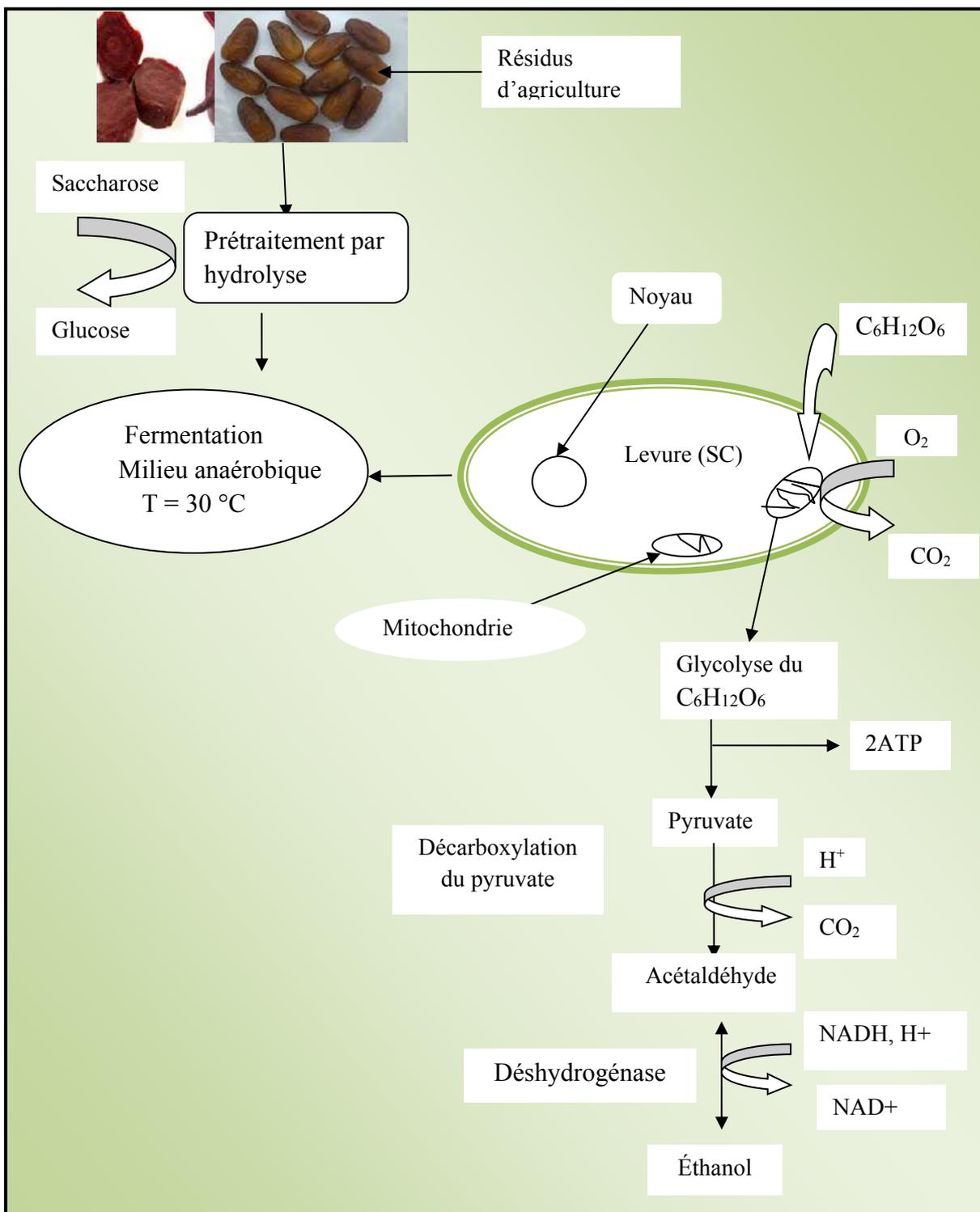


Figure II.3. Principe de la fermentation alcoolique du glucose par la levure (SC)

II.3.3. Micro-organismes utilisés en fermentation

La fermentation est mise en œuvre dans des bioréacteurs (ou fermenteurs) qui assurent la croissance des micro-organismes et qui élaborent des réactions biologiques (réactions à cellules). Celles-ci sont généralement catalysées par des substances particulières appelées

enzymes. Les enzymes sont des catalyseurs biologiques appartenant à la classe des protéines qui sont des macromolécules résultant de la polycondensation d'acides aminés.

a) Souches microbiennes

Les micro-organismes naturels, constituant un ensemble très varié (bactéries, levures, champignons microscopiques, cellules animales et végétales) constitue un réservoir extraordinaire d'agents capables à la mise en œuvre de bioprocédés industriels. Le **Tableau II.2** donne succinctement les produits industriels obtenus à l'aide de ces micro-organismes.

Tableau II.2. Produits industriels issus de bioprocédés

Type de micro-organismes	produit	Secteur d'utilisation
levure	Pain, vin, bière, sauce de soja	Alimentation
bactéries	Pain, yaourt, vinaigre	
moisissures	Fromage, camembert	
Bactéries	Antibiotique, hormones	pharmaceutique
Moisissures	Antibiotiques	
Cellules de mammifères	interféron	
Levures	Enzyme	Agro-alimentaire
moisissures	enzyme	
Levures	Ethanol	Intermédiaires chimiques
Bactéries	Acétone, butanol	
moisissures	Acide citrique	
bactéries	bio insecticide	pesticides

b) Croissance microbienne

La courbe de croissance microbienne en mode discontinu fait apparaître différentes phases
Figure II.4.

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.

La phase exponentielle de croissance : c'est la phase au cours de laquelle la vitesse spécifique de croissance μ_{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 μ_{max} . On a alors :

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

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

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

μ_{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 (II.1) reste alors valable.

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.

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

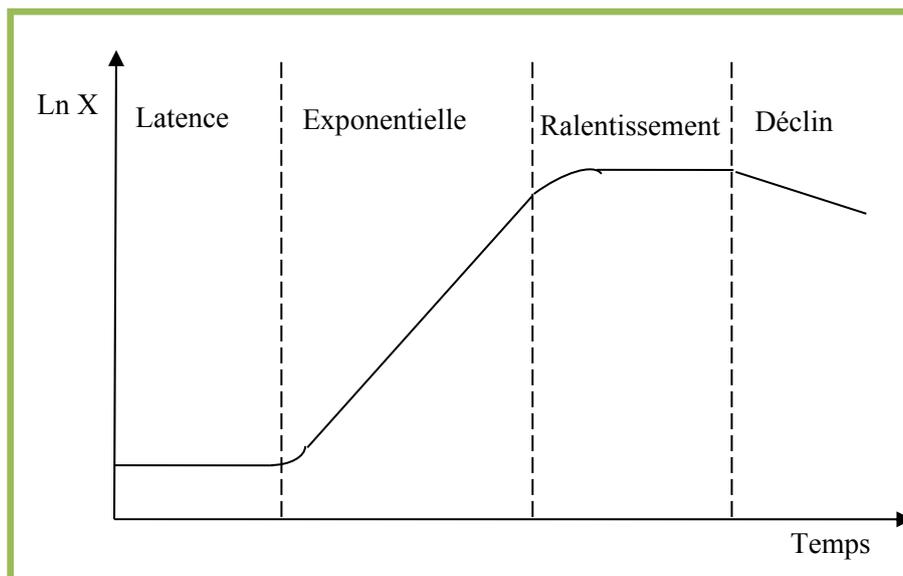


Figure II.4. Les phases de la croissance bactérienne en mode discontinu

c) Paramètres de croissance

Certains paramètres de croissance peuvent être déterminés suite à une utilisation de micro-organismes dans un bioprocédé. Il s'agit du taux de croissance, du temps de doublement de la biomasse et de la vitesse spécifique de croissance μ_{\max} (voir Eq. II.1).

Taux de croissance : Il mesure l'accroissement de la population microbienne au cours d'une période de temps t donnée et dans des conditions déterminées ; il est noté μ et est donné par la relation :

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (\text{Eq. II.2})$$

X est la biomasse microbienne (g/L ou en nombre de cellules).

μ a pour unité temps⁻¹.

Temps de doublement de la biomasse : Il est également appelé temps de génération ; il indique le temps auquel la biomasse microbienne double. Il est noté t_d et est donné par la relation :

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (\text{Eq. II.3})$$

II.3. 4. Définition de la levure boulangère type (*saccharomyces cerevisiae*)

Les levures peuvent être définies comme des eucaryotes microscopiques. Elles sont des Hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leur caractère Unicellulaire et l'absence de vrai mycélium (au moins dans la plus grande partie de leur cycle biologique) largement distribuées dans la nature. Elle a été découverte, isolée et

identifiée au milieu du XIX^{ème} siècle. Ce champignon, capable de métaboliser des sucres, (saccharo-) responsable de la fermentation fut appelé *Saccharomyces cerevisiae* par Mayen en 1837 [43].

a) Morphologie et Structure

Les levures se caractérisent par la présence d'un :

- Noyau.
- Mitochondrie.
- Appareil de Golgi.
- Chromosomes.

Les cellules végétatives sont généralement ovoïdes ou sphériques. Leur taille cellulaire varie de quelques microns jusqu' à 25 à 30 microns [23].

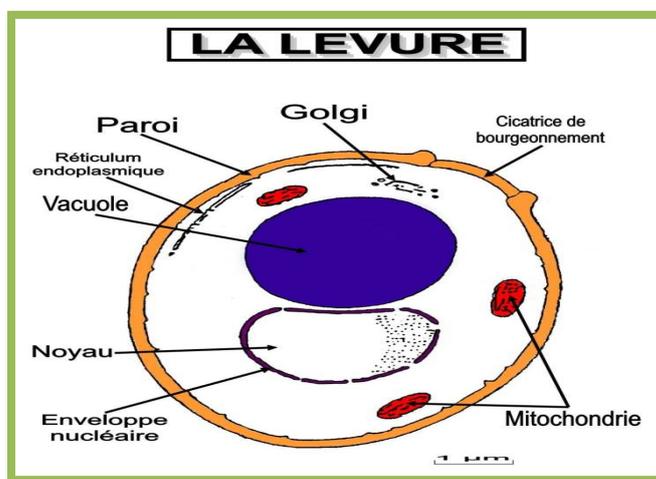


Figure II.5. La structure morphologique et les constituants de la levure type (*saccharomyces cerevisiae*)

b) Le métabolisme fermentaire des (*saccharomyces cerevisiae*)

En absence totale d'oxygène, (*Saccharomyces cerevisiae*) présente un métabolisme fermentaire. L'oxygène n'est plus l'accepteur final d'électrons, ce rôle est joué par des molécules organiques comme l'acétaldéhyde. Comme pour le métabolisme oxydatif, le glucose est dégradé par la voie de la glycolyse jusqu'au pyruvate. A ce niveau là, le pyruvate n'est plus dirigé vers le cycle de Krebs mais est converti en éthanol et CO₂. La première étape est la décarboxylation du pyruvate en acétaldéhyde par la pyruvate décarboxylase, puis la réduction finale de l'acétaldéhyde en éthanol est catalysée par l'alcool déshydrogénase utilisant le NADH, H⁺ comme coenzyme [49]. Le métabolisme fermentaire produit beaucoup moins d'énergie que le catabolisme aérobie et le cycle de Krebs n'a qu'un rôle anabolique (synthèse de précurseurs), seule la synthèse d'éthanol permet la production d'énergie nécessaire aux besoins de la cellule et la ré-oxydation du NADH produit lors de la glycolyse [49].

c) Conditions de croissance

Dans nos expériences de fermentation on a utilise la culture en discontinu (batch)
 La croissance se traduit par l'augmentation en taille et en nombre pour assurer le développement il faut fournir aux micros organisme les nutriments nécessaires.

d) Les besoins nutritionnels de la levure

Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires à la croissance et aux besoins énergétiques de la levure. 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 sont métabolisme fermentaire [49].

Les éléments nutritifs	exemples
L'eau	Les levures sont constituées de 75% d'eau et 25% de matière sèche
Une source de carbone	représente environ 50% du poids sec de la levure
une source d'azote	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)
une source des vitamines	des régulateurs et des cofacteurs importants des voies métaboliques. Elles agissent généralement comme coenzymes ou précurseurs d'enzymes. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> est auxotrophe pour les vitamines suivantes qui seront ajoutées au milieu de culture
des oligo-éléments (ions inorganiques)	les macroéléments : K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Zn ²⁺ , Fe ²⁺ , Fe ³⁺ , Mn ²⁺ , Cl ⁻ dont la concentration nécessaire varie entre 0,1 et 1 mm.
	les micro-éléments : Co ²⁺ , B ²⁺ , Cd ²⁺ , Cr ⁺ , Cu ²⁺ , I ⁻ , Mo ⁺ , Ni ²⁺ pour lesquels une concentration de 0,1 à 100 µM est suffisante

II.3.5. Influence des paramètres environnementaux sur la croissance des microorganismes (SC)

a) Effet de la température

A température faible l'activité cellulaire microbienne peut être bloquée, l'élévation de la température augmentera la vitesse de croissance (métabolisme cellulaire sera plus actif à la température plus élevée) la température optimale est comprise entre [23-28].

b) Effet du pH

Un facteur très important pour la croissance de la levure (*saccharomyces cerevisiae*) qui détermine l'activité métabolique de la cellule. *Saccharomyces cerevisiae* présente l'avantage de croître sur milieux acides pour lesquels la plus part des bactéries ne se développent pas. La fermentation alcoolique se déroule à un pH acide (pH 4,5 à 5) [52].

c) Rôle d'O₂

Il est important pour la synthèse des acides gras insaturés et des stérols qui protègent les levures du stress alcoolique chez les (*saccharomyces cerevisiae*) l'O₂ est indispensable pour assurer la survie des levures et l'épuisement complet des sucres en présence de concentration élevée en éthanol son apport doit être continu tout au long de la culture.

II.4. Récupération et purification des produits de fermentation

Après fermentation, on obtient divers produits qu'il faut séparer et récupérer. Parmi ces produits, il y a le bioéthanol qui se forme dans la solution en faible concentration. Il est nécessaire de le récupérer par distillation ou rectification et éventuellement une déshydratation pour éliminer toute trace d'eau [42].

II.4.1. Récupération du bioéthanol (distillation)

C'est l'opération classique de récupération de l'alcool éthylique résultant de la fermentation ; elle s'opère dans des colonnes à distiller. Ainsi le moût alcoolisé est réchauffé à 75 °C puis éjecté dans la partie supérieure d'une colonne de distillation qui comporte des plateaux superposés.

Le moût alcoolisé tombe sur le premier plateau et descend de plateau en plateau pour aboutir à la base de la colonne, inversement de la vapeur est injectée sous pression à la base de la colonne et progresse vers le haut en traversant successivement tous les plateaux. Elle entre ainsi en contact direct avec le liquide. Le moût s'épuise petit à petit de son alcool en descendant de plateau en plateau. Arrivé au bas de la colonne, ce liquide épuisé appelé vinasse est éliminé. La vapeur s'enrichit au contraire en alcool à mesure qu'elle gagne le sommet de la colonne. Lorsqu'elle est par le haut, elle se refroidit dans un condenseur et passe à l'état liquide [46].

II.4.2. Purification du bioéthanol

La production de l'alcool rectifié à 96% à partir des moûts de toutes origines se fait par la purification du moût alcoolisé, sur la colonne d'épuration ensuite par la distillation et la rectification du moût épuré. Pour ce qui est la mélasse, la colonne de distillation fonctionne sous vide pour éviter les encrassements. Cette opération peut être complétée par une colonne d'affinage afin d'éliminer les produits légers [46].

II.5. Techniques de fermentation alcoolique

II.5.1. Fermentation et hydrolyse séparées

Le mécanisme **Figure II.6** fondé sur la base de la séparation de l'hydrolyse et la fermentation en deux processus distincts comme dans le processus de production de bioéthanol normal, l'hydrolyse sera effectuée d'abord pour dégrader les sucres de manomètre de charge par l'utilisation suivie de la réaction de fermentation qui augmentera les sucres dans la phase d'hydrolyse. Un problème majeur associé au processus (SHF) est l'inhibition du produit final par des sucres qui se forment lors de l'hydrolyse [54].

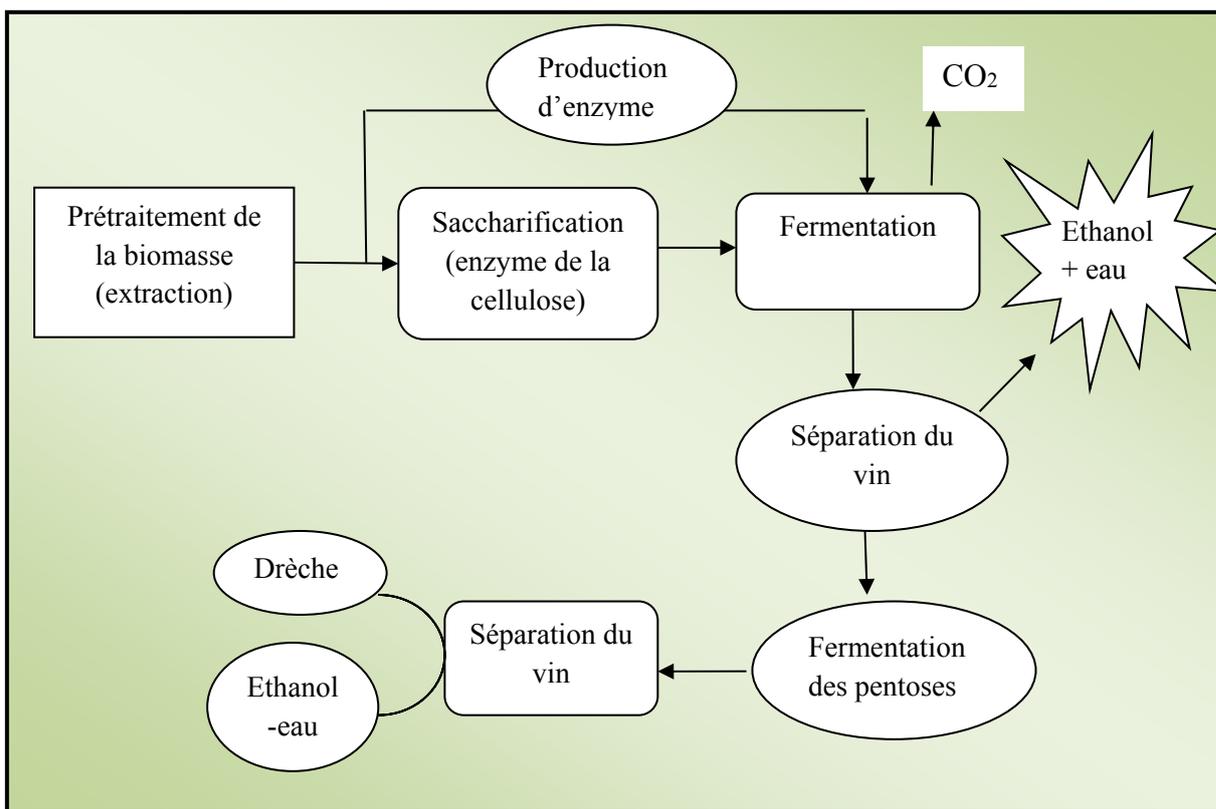


Figure II.6. Technique de fermentation et hydrolyse séparées pour la biomasse lignocellulosique [44]

II.5.2. La saccharification et fermentation simultanée (SFS)

Ce procédé nécessite la présence d'enzymes pour l'hydrolyse (cellulases) et de celles pour la fermentation. Ce procédé est appelé conversion microbienne directe. Il consiste à réunir en une seule étape la production de cellulase, l'hydrolyse enzymatique de la cellulose et la fermentation du glucose **Figure II.7**. L'un des problèmes est l'obtention d'un rendement en bioéthanol faible causé par la faible tolérance des microorganismes au bioéthanol. A l'issue de la fermentation, le bioéthanol est formé en mélange avec de l'eau ainsi que d'autres sous-produits de fermentation. Il est donc nécessaire d'isoler le bioéthanol des autres molécules pour obtenir une concentration élevée. Pour isoler un produit plus volatil que l'eau, la distillation est une solution efficace. A la sortie de la colonne de distillation, le bioéthanol est concentré à 37%. Celui-ci est ensuite à nouveau concentré dans une colonne rectifiant à un pourcentage légèrement inférieure à l'azéotrope (95%). D'autres étapes de distillation sont encore réalisées pour atteindre une concentration en bioéthanol de 99,6% [36].

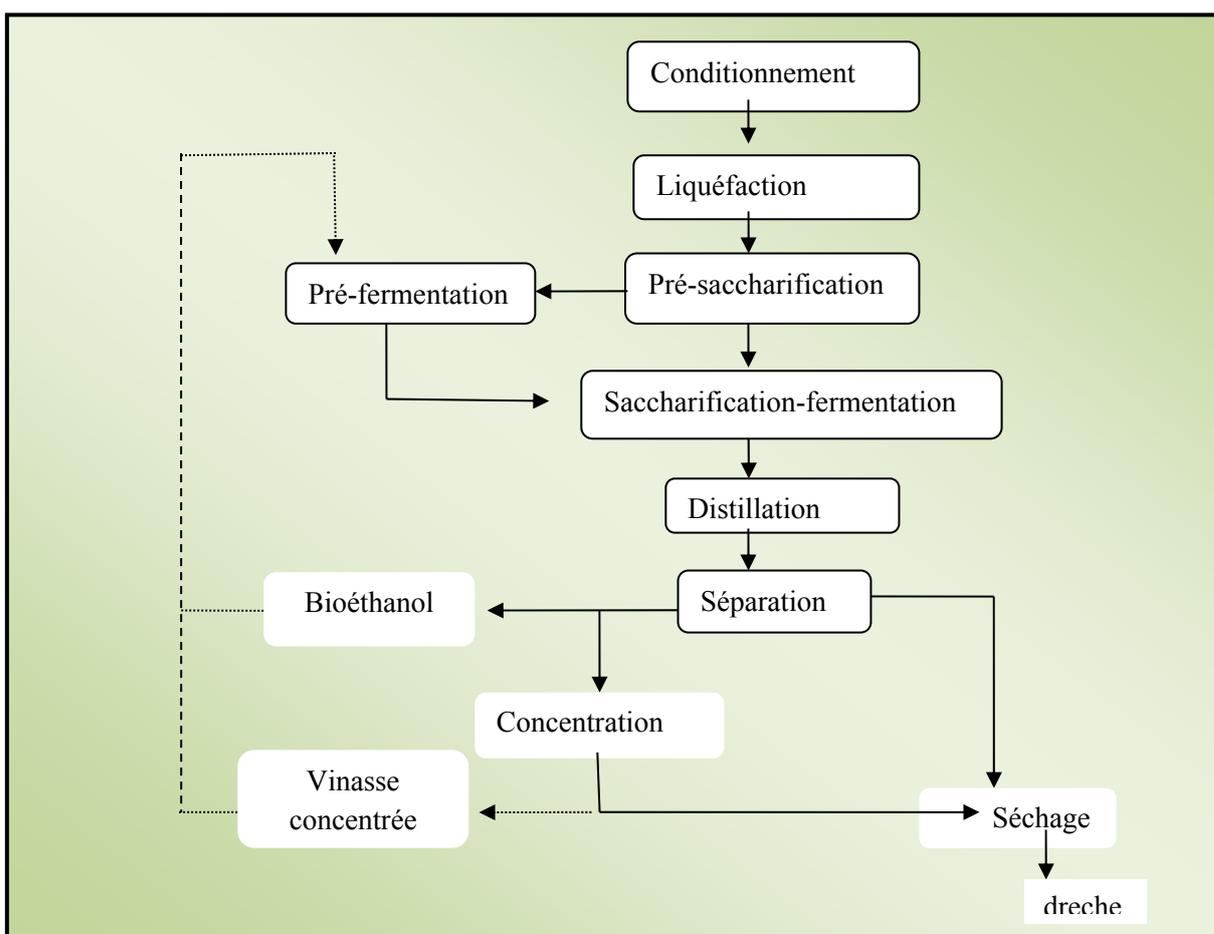


Figure II.7. Saccharification et fermentation simultanées (SFS) [45]

II.5.3. Distillation du mélange eau-éthanol (purification)

Le procédé de distillation **Figure II.8** est conçu pour la production d'alcool hydraté à 96%, à partir de bière fermentée. Le système se compose de 3 colonnes, à savoir deux colonnes de concentration, et une colonne de rectification. Les deux colonnes de concentration, dont la première opère sous vide, et l'autre en légère surpression, fonctionnent en parallèle. La vapeur d'alcool sortant des colonnes de concentration est alors condensée, puis acheminée, via un préchauffeur, vers la colonne de rectification où l'alcool est concentré jusqu'à 96%. L'alcool est à nouveau condensé, puis refroidi et enfin stocké dans un réservoir, dans l'attente de son transport vers l'unité de déshydratation. Là on va déshydrater le bioéthanol obtenu (96%) on le faisant passer à travers un tamis moléculaire de (silicoaluminate métallique) pour améliorer son rendement de 96% à 99,9% (éthanol anhydre).

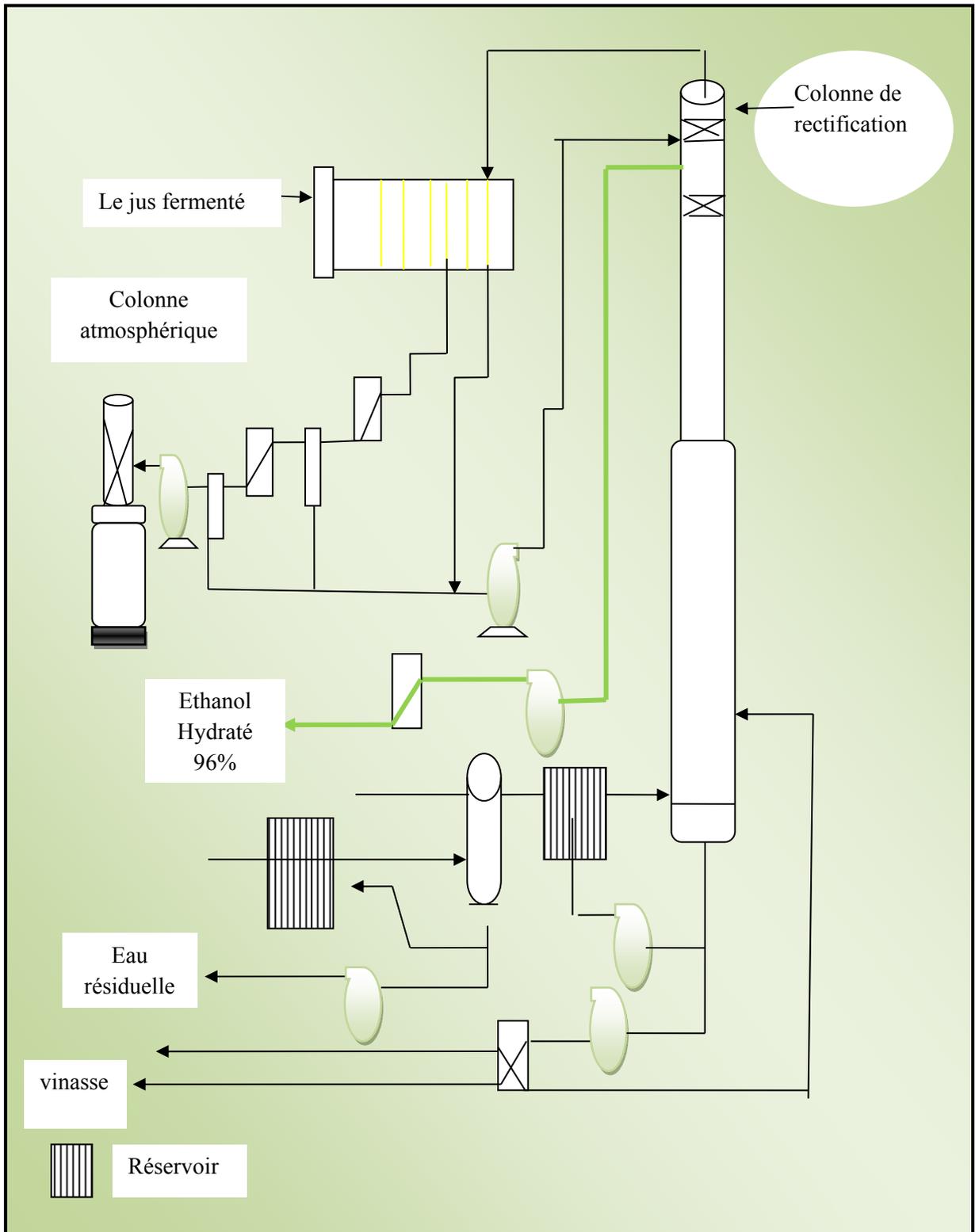


Figure II.8. Schéma du procédé de distillation-rectification d'un jus fermenté [43]

II.5.4. Obtention de biomolécules à grande valeur ajoutée

Le saccharose peut être utilisé comme substrat de fermentation pour produire de l'alcool éthylique ou de l'alcool butylique, de la glycérine ou de l'acide citrique. Le saccharose peut également être converti en esters et éthers, desquels on peut extraire des résines dures et solides. La mélasse permet aussi de produire de l'alcool, utilisé comme spiritueux ou en médecine et aussi dans la fabrication de parfums. L'acide lactique est produit par fermentation bactérienne du saccharose. A partir d'acide lactique, il est possible de synthétiser des sels et des esters [47].

III.1. Introduction

Dans un but de mettre en œuvre des manipulations en vue de produire du bioéthanol à partir de résidus d'agriculture, des méthodes expérimentales inspirées de travaux antérieurs ont été sélectionnées. Ces méthodes ont particulièrement trait à :

La caractérisation de l'espèce de levures choisie à cet effet et la définition des conditions de croissance;

Le choix de la matière première nécessaire à ce procédé ainsi que l'élaboration du prétraitement en vue d'extraire le jus (substrat) ;

La caractérisation du substrat par la mesure de certains paramètres physico-chimiques et biochimiques dont les techniques sont succinctement exposées ;

L'élaboration du procédé de fermentation et de la méthode d'analyse mettant en évidence ce procédé ;

La distillation du vin en vue de récupérer le bioéthanol formé ;

Les techniques analytiques utilisées pour caractériser le produit désiré.

Chaque méthode et technique est accompagnée de schéma et protocole explicatifs rendant la lecture aisée et la reproduction possible.

III.2. Matériels

Dans le présent travail, nous avons utilisé divers produits : végétal, biologique et chimique. Nous avons également eu recours à des appareils. Ces produits et appareils sont cités dans le **Tableau III.1.**

III.2.1. Caractéristiques de la levure *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.1. Matériels et appareils utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol

Type de matériels	Matériels
Matériels végétal	- Betterave sucrière algérienne de moindre qualité - Dattes algériennes de moindre qualité provenant de la région du Sahara
Matériel biologique (Micro-organisme)	Levure boulangère (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
Milieu nutritionnel	- KH_2PO_4 (5 g/L) - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1 g/L) - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (2 g/L)
Appareils utilisés	- pH-mètre de type Inolab pH 7110 - Spectrophotomètre de type Secomam Prim - Refractomètre de type Atago RX-5000 - Thermomètre - centrifugeuse 80-2 CENTRIFUGE - Balance de type - Microscope optique DM300, LEICA - plaque chauffante IKAMAG
Réactifs chimiques	- Glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) - Hydroxyde de sodium (NaOH) - Phénolphtaléine - Chaux (CaCO_3) - Acide sulfurique (H_2SO_4) - Acide chlorhydrique (HCl)

Tableau III.2. Conditions de croissance de la levure *Saccharomyces cerevisiae* [53]

Paramètres physico-chimiques	Conditions optimales pour l'activité levurienne
Température	30 °C
pH	4,5
Type de fermentation	anaérobie
Sels minéraux	Azote, Potassium, Phosphates, Magnésium
Sucres fermentés	Glucose, saccharose
Sucres non fermentés	Lactose

III.3. Sélection et préparation de la matière première (Betterave, dattes)

III.3. 1. Matières premières et technologies de production du bioéthanol

Le bioéthanol peut être produit à partir de n'importe quelle biomasse contenant des quantités significatives d'amidon ou de sucres. Actuellement, il y a une légère prédominance de la production à base de matériaux amylicés (53% du total), comme la betterave sucrière le maïs, le blé et d'autres céréales et grains, etc. [50]. Dans ce travail, nous avons tenté de faire des expériences avec la betterave algérienne **Figure III.1a** et les dattes provenant du sud algérien **Figure III.1b**.

a) La betterave

Parmi les cultures qui produisent directement du sucre, la betterave sucrière (*Beta vulgaris*) a largement été utilisée pour la fabrication du bioéthanol, en employant le miel résiduel (mélasse) toujours disponible dans la production industrielle de saccharose. Ce légume a une racine tubéreuse, dans laquelle s'accumulent des quantités élevées de sucre. Le traitement industriel de la betterave débute par le nettoyage et par le fractionnement en fines tranches, acheminées ensuite dans un diffuseur où elles sont successivement lavées à l'eau chaude et libèrent leur sucre. Le liquide résultant de cette opération contient environ 16% de solides solubles extraits de la betterave. À partir d'une tonne de tubercules est produit typiquement 86 litres de bioéthanol et 51 kg d'une tourte fibreuse, qui peut être utilisée pour l'alimentation animale. Il faut noter que, bien qu'elle présente une productivité élevée, la betterave dépend de l'énergie externe (électricité et combustible) pour son traitement [50].

b) Les dattes

Les dattes, à part leur grande richesse en sucres et leur pouvoir de conservation relativement longue [50]. Peuvent constituer un substrat de choix pour produire de nombreuses substances à forte valeur ajoutée tel que l'éthanol. Ce dernier issu d'un procédé biotechnologique de fermentation anaérobie est d'une importance économique indéniable du fait qu'il est utilisé dans des secteurs variés et vitaux [51]. La datte est le fruit comestible du palmier-dattier (*Phoenix dactylifera*). Le terme « datte » en référence à la forme de ce fruit est un fruit charnu, de 4 à 6 cm de long, contenant un noyau allongé. Commercialisée le plus souvent sous forme de datte sèche, sa répartition géographique est liée au climat chaud des régions sahariennes du globe [24].



Figure III.1. Matières premières utilisées pour la production du bioéthanol :
(a) Betterave, (b) Dattes

III.3.2. Protocole de prétraitement de la biomasse pour l'extraction du jus (substrat)

Pour la préparation des différents moûts et extraction du jus, des opérations telles que le lavage, le dénoyautage, le broyage, l'égouttage sont effectuées. Les prétraitements diffèrent selon la nature de la matière première et sa teneur en sucres (saccharose, fructose ou glucose). Le schéma du prétraitement est illustré sur la **Figure III.4**.

a) Prétraitement de la betterave

- Pour rendre les sucres contenus dans la betterave accessibles à la souche *Saccharomyces cerevisiae*, le légume doit subir un prétraitement incluant les étapes suivantes **Figure III.2**:
- Laver les gossettes de betterave afin de les débarrasser de la terre et des herbes ;
- Râper 500 g de betterave sucrière et les mélanger avec 200 ml d'eau distillée. Cette opération permet d'augmenter la surface de contact avec l'eau et extraire le maximum de sucre ;
- Placer le mélange dans un ballon de 2 litres muni d'un réfrigérant à reflux ;
- Disposer le ballon dans un bain thermostaté à une température de 65 °C et agiter pendant 30 min afin de maximiser la diffusion du saccharose ;
- Laisser décanter dans une ampoule à décanter pendant au moins 7 h. Cette opération facilite l'obtention d'un jus plus ou moins limpide ;
- Effectuer une filtration sous vide à l'aide d'un Büchner muni d'une trempe à eau ;
- Hydrolyser l'extrait avec 250 ml d'acide chlorhydrique de concentration 0,1M ce qui permet de transformer le saccharose en glucose et fructose ;
- Neutraliser le milieu avec de l'acide chlorhydrique 0,1M jusqu'à l'obtention d'un pH=4,5 ;
- Doser les sucres dans le jus de betterave ainsi obtenu.

b) Prétraitement de la betterave avec chaulage

L'opération de chaulage peut dans certains cas augmenter l'efficacité d'extraction du jus de betterave et conduire à une bonne opération de fermentation. Le chaulage consiste en une clarification du moût de betterave par épuration calco-carbonique (ajout de CaCO_3) susceptible de précipiter des impuretés.

Nous avons donc été tentés d'effectuer cette expérience afin de comparer les résultats avec ceux du prétraitement sans chaulage. De la même manière que précédemment, le prétraitement de la betterave est conduit jusqu'au stade de la filtration ; on ajoute alors 40 ml de CaCO_3 (10 g/L) au filtrat. Le carbonate de calcium fixe les impuretés et les précipite. Le précipité est alors éliminé par une deuxième opération de filtration qui conduit à un jus de betterave limpide. L'hydrolyse et la neutralisation se font ensuite de la même manière que pour le prétraitement sans chaulage.

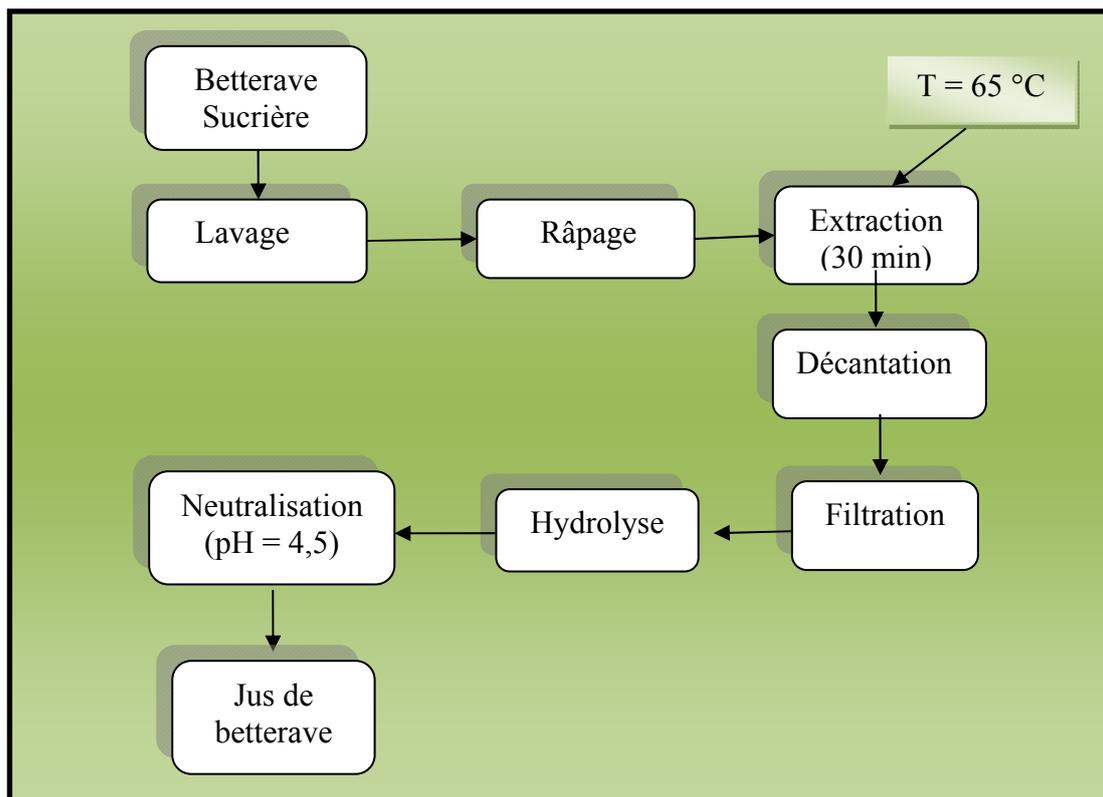


Figure III.2. Etapes de prétraitement de la betterave sucrière

c) Prétraitement des dattes

- Les principales étapes pour la production du sirop de dattes sont similaires à celles évoquées précédemment. Elles sont résumées comme suit **Figure III.3**:
- Laver les dattes pour les débarrasser des impuretés, puis les dénoyauter à l'aide d'un couteau tranchant ;
- Broyer grossièrement le fruit et le mélanger à 100 ml d'eau distillée ;
- Placer le mélange dans un ballon de 500 ml muni d'un réfrigérant à reflux ;
- Disposer le ballon dans un bain thermostaté à une température de 65 °C et agiter pendant 30 min;
- Refaire cette opération en rajoutant 100 ml d'eau distillée et agiter le mélange pendant 30 min sous une température de 65 °C. Ceci permet une meilleure extraction des sucres et un bon épuisement des pulpes ;
- Filtrer le mélange en récupérant le jus de dattes ;
- Neutraliser le jus avec HCl 1M jusqu'à un pH de 4,5. Ce pH acide préjudiciable au développement des bactéries s'avère propice à la prolifération des levures [40].
- Doser les sucres totaux dans le jus de dattes ainsi obtenu.

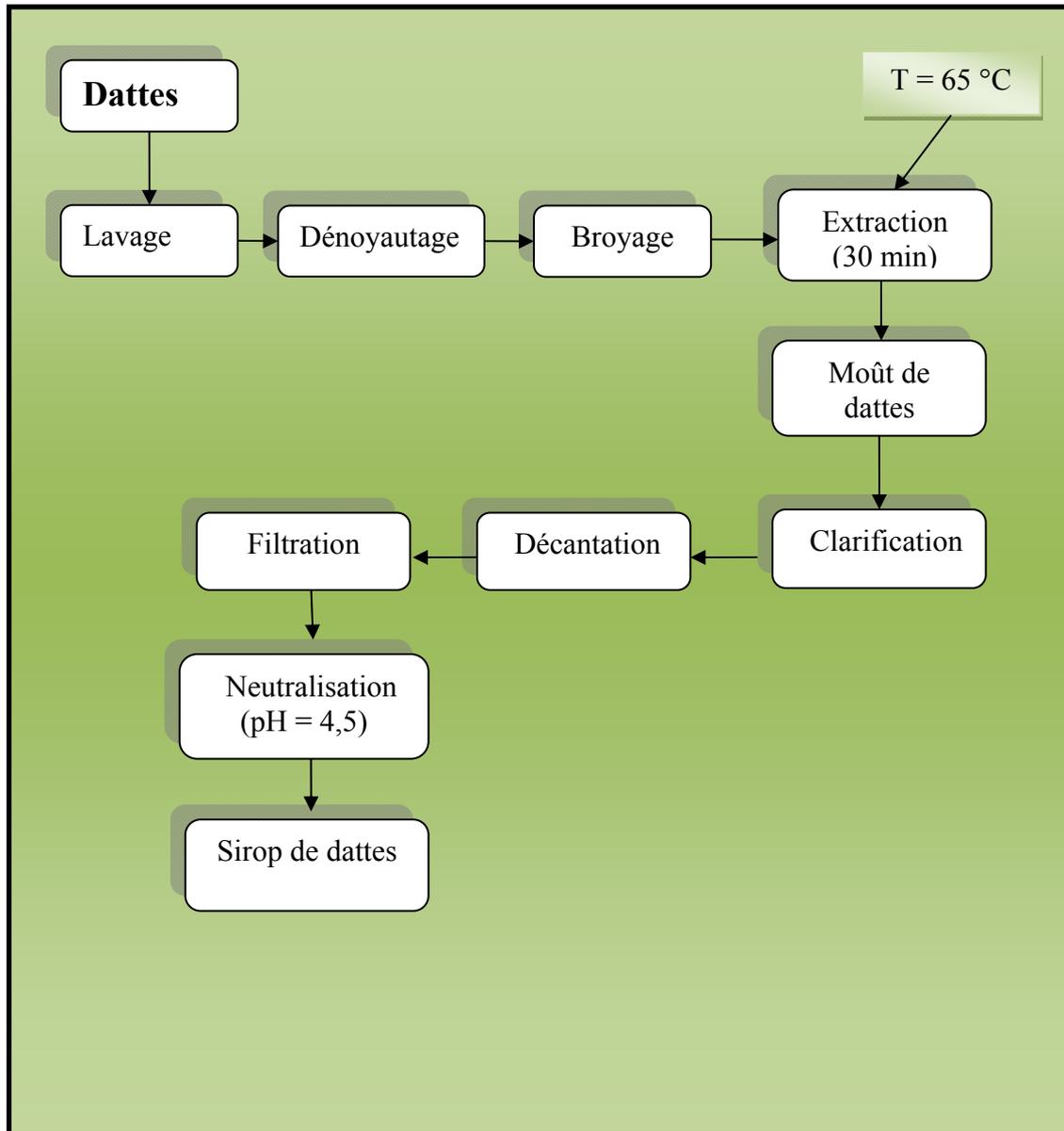


Figure III.3. Etapes de prétraitement des dattes

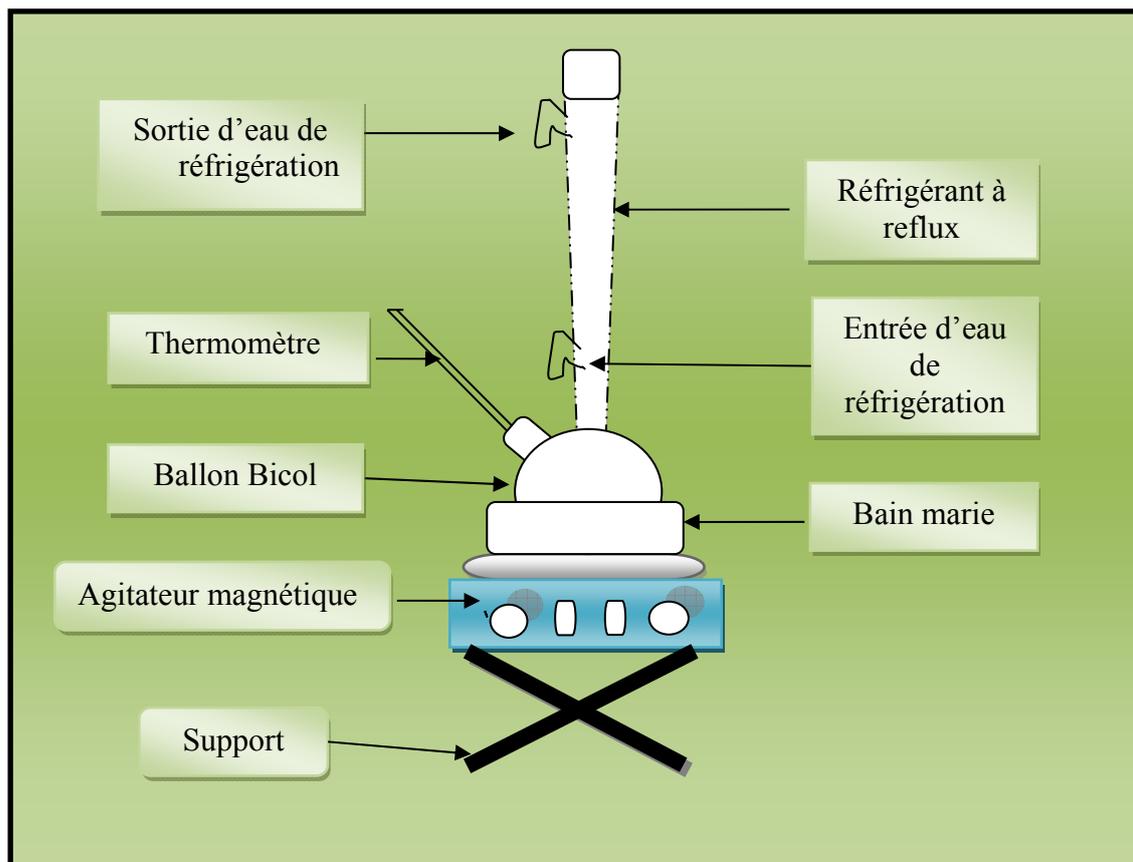


Figure III.4. Montage expérimental pour l'extraction du jus de dattes et de betterave

III.4. Procédé de fermentation éthanolique

Pour qu'une fermentation s'effectue dans de bonnes conditions, le moût extrait de la matière première ne doit pas excéder une concentration en sucres supérieure à 300 g/L. La concentration initiale en sucres fermentescibles est très importante car elle conditionne le taux d'alcool en fin de fermentation [40]. Aussi, le milieu doit être supplémenté de sels minéraux pour assurer un métabolisme optimal pour les levures.

La fermentation est conduite en anaérobiose pendant 72 heures. Toutefois, cette opération est favorisée par une agitation due au mouvement des bulles du CO_2 dégagé. Pour suivre l'évolution de la fermentation, des mesures de la concentration de CO_2 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 ;
- L'évolution de la couleur et de l'odeur du moût ;
- La densité du milieu ;

Par ailleurs, le suivi cinétique de croissance des levures a été fait par l'identification des phases de latence, exponentielle et ralentissement (dans le présent travail, la phase de déclin n'a pas pu être mise en évidence).

III.4.1. Protocole de la fermentation alcoolique

Les expériences de la fermentation des jus de betterave et de dattes sont réalisées dans un bioréacteur d'une capacité de 500 ml opérant en mode discontinu **Figure III.5**. L'agitation magnétique est assurée et la température du bain thermostat est maintenue à une valeur de 30 ± 2 °C. Un volume de 500 ml de jus (ayant un pH de 4,5) légèrement chauffé est placé dans le fermenteur ; les éléments nutritifs voir **Tableau III.1** nécessaires à la croissance des micro-organismes sont ajoutés au milieu. Une légère agitation du liquide favorise l'oxygénation du milieu. Une masse de 2 g de levures est alors versée dans le réacteur qu'il faut rapidement fermer à l'aide d'un bouchon hermétique afin d'assurer les conditions anaérobiques. La fermentation commence une fois que le dégagement de CO_2 est observé. La quantité de CO_2 dégagé est alors mesurée par la méthode de déplacement de liquide voir § III.4. Le temps de fermentation est fixé à 72 h au bout duquel l'opération de distillation du mélange fermenté est élaborée afin de récupérer le bioéthanol.

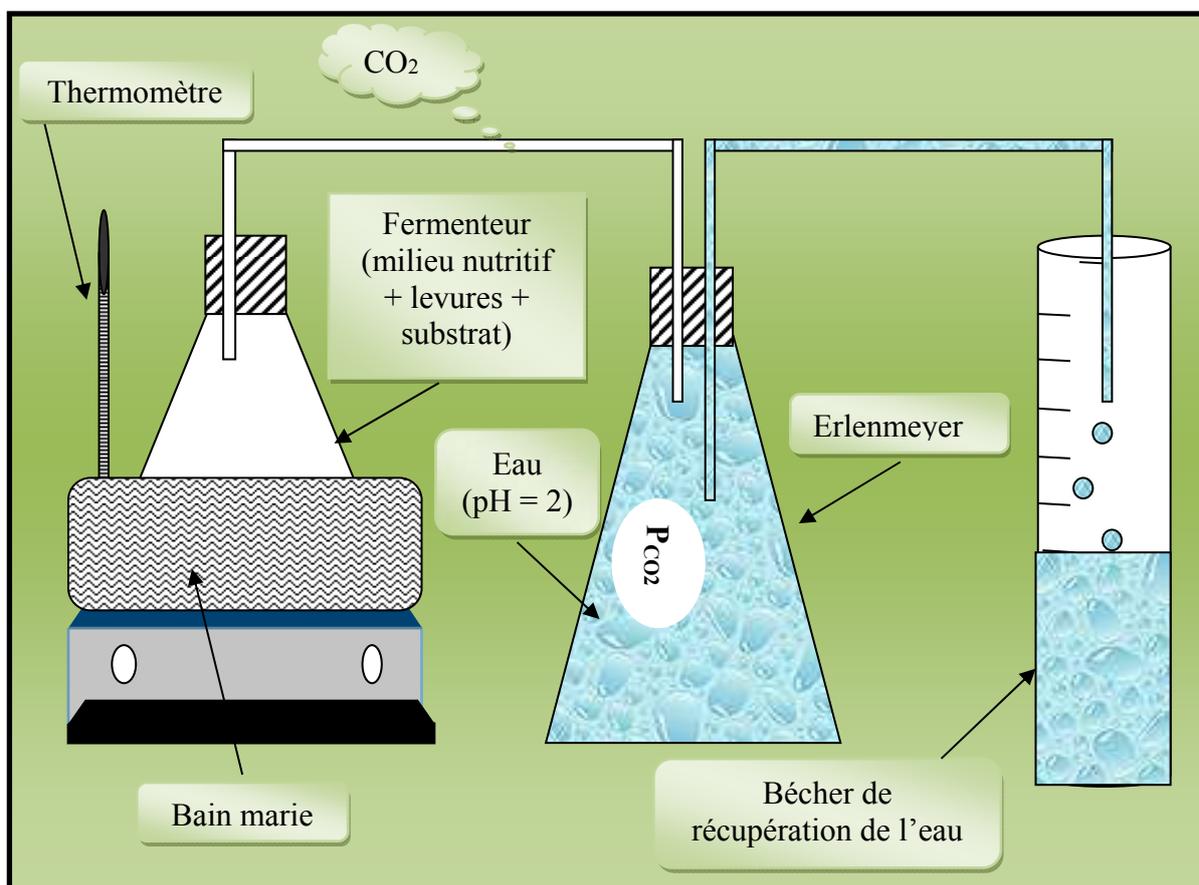


Figure III.6. Dispositif expérimental de la fermentation alcoolique

III.4.2. Distillation du mélange-Récupération du bioéthanol

Après 72 h de fermentation, le vin de dattes (ou de betterave) 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).

III.5. Techniques analytiques et aspect du substrat

Le jus des matières premières (betterave et dattes) produit est caractérisé moyennant la détermination d'un certain nombre de ses propriétés physicochimiques pour se rendre compte de son aptitude à la biotransformation. Parmi ces paramètres nous citons: le pH, l'extrait sec soluble massique (°Brix), l'acidité titrable, les taux de sucres totaux, etc. Aussi, le bioéthanol est caractérisé par la mesure de certains paramètres physico-chimiques en utilisant des moyens mis à notre disposition dans notre laboratoire.

III.5.1. 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.5.2. Mesure du Brix

Le Brix est une mesure de l'extrait sec soluble total (Sucres). Il est mesuré par un réfractomètre. La détermination du Brix est basée sur la capacité des sucres d'un jus à faire dévier la lumière [52]. Un réfractomètre mesure le Brix par un pourcentage Brix en graduations de 0,1 pour cent. Certains réfractomètres compensent automatiquement les changements de température alors que d'autres peuvent être étalonnés pour une lecture précise à une température fixe (généralement 20 °C).

Dans le présent travail, le Brix des jus de betterave et des dattes est déterminé par un réfractomètre du type ATAGO RX-5000 .

III.5.3. Mesure du pH

La détermination du pH, est essentielle pour le contrôle du moût, 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 pH-mètre de type Inolab pH 7110 .

III.5.4. Mesure de la matière sèche

La matière sèche (substrat) est déterminée sur un échantillon de 10 ml de jus par dessiccation à l'étuve à une température de 105 °C jusqu' à l'obtention d'un poids constant [69]. Elle est exprimée en pourcentage est égale à :

$$MS(\%) = \frac{M_1 - M_0}{M_2 - M_0} \times 100 \quad (\text{III.1})$$

M_0 est la masse de la capsule vide (g),

M_1 est la masse de capsule et du résidu après dessiccation (g),

M_2 est la masse de la capsule et de la prise d'essai (g).

III.4.5. Mesure de la densité

La densité d'un liquide est le rapport entre la masse volumique de ce liquide et celle de l'eau prise à 4 °C (1000 kg/m³). Dans ce travail, la masse volumique du bioéthanol a été déterminée par pesée (m) d'un volume connu (V) de bioéthanol à 20 °C. Le rapport m/V donne alors la valeur de la masse volumique de l'alcool qui permet d'accéder à la densité recherchée.

III.4.6. Dosage de l'acidité

La méthode utilisée est la titration avec une base forte de tous les acides organiques ; nous utilisons pour la titration, de la soude 1N avec la phénolphaléine comme indicateur coloré.

III.4.7. Dosage des sucres totaux

Les sucres totaux sont déterminés selon la méthode de Dubois et al., (1956) dont le principe repose sur la réaction suivante : l'acide sulfurique concentré provoque, à chaud, le départ de plusieurs molécules d'eau à partir des oses. Cette déshydratation s'accompagne de la formation d'un hydroxy-méthylfurfural (HMF) dans le cas d'hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune-orangé). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses. La densité optique est mesurée à 488 nm à l'aide d'un spectrophotomètre [52].

III.4.8. Quantité de biomasse

La quantité de biomasse de levures évoluant au cours de la fermentation est importante à connaître. Elle permet de suivre la croissance des micro-organismes afin d'estimer la qualité de l'opération de fermentation. Une fois celle-ci terminée, le milieu de fermentation est récupéré et filtré. La phase solide est centrifugée à 3500 tours/min pendant 15 minutes. Le culot obtenu est lavé deux fois avec de l'eau distillée puis centrifugé à nouveau. Le culot est alors pesé pour déterminer le poids en biomasse fraîche. Après séchage à 75 °C durant 24 h Le poids sec est déterminé.

III.4.9. Mesure de la pression du CO₂

Le CO₂ 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.6** montre le montage permettant d'effectuer la mesure de la pression du CO₂. Le fermenteur est relié par l'intermédiaire d'un tube à un erlenmeyer rempli d'eau à un pH égal à 2. Ce dernier est à son tour relié par un deuxième tuyau à un récipient vide. Le CO₂ 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 CO₂ libéré. Pour une bonne mesure, le système doit être étanche.

IV.1. Introduction

Ce chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus dans le cadre de ce travail expérimental. On interprétera et discutera chaque résultat afin de valoriser ce projet. Les points présentés ici concernent :

- Les caractéristiques physicochimiques des jus de betteraves et jus de dattes avant et après le procédé de fermentation alcoolique. Ces caractéristiques, indispensables dans de tels procédés, sont principalement le dosage du glucose, le degré Brix, le pH, la densité cellulaire,
- Les résultats des prétraitements élaborés considérés comme étapes préliminaires au procédé de production du bioéthanol;
- Les différents milieux de pré-culture de la levure *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) pour choisir ceux qui conviennent le mieux au développement de ces microorganismes ;
- Les produits du procédé de fermentation alcoolique qui constitue le cœur du présent projet. Là, on détaillera l'évolution du procédé et on caractérisera les produits obtenus qui dépendent eux-mêmes de la nature du substrat utilisé ;
- Quelques caractéristiques du bioéthanol obtenu après fermentation et distillation des produits. Le rendement de l'opération sera également présenté et discuté.

IV.2. Courbes d'étalonnage

IV.2.1. Dosage du glucose par spectrophotométrie UV-vis

Le procédé de fermentation alcoolique, exige que les sucres complexes contenus dans la matière première (dattes et betteraves sucrières) se convertissent en sucres simples (glucose, fructose) pour qu'ils puissent être accessibles aux microorganismes. Pour connaître la quantité de glucose dans les substrats utilisés dans ce travail, il faut au préalable établir une courbe d'étalonnage. Cette dernière se fait à une longueur d'onde de 488 nm en utilisant des solutions étalons à différentes concentrations en glucose (0, 2, 4, 6, 8 et 10 mg/L). La mesure de l'absorbance se fait à l'aide d'un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage donnée sur la **Figure IV.1** représente la variation de l'absorbance en fonction de la concentration du glucose ; la courbe est linéaire dans le domaine des concentrations choisies et le coefficient de détermination est de 0,997. Le domaine de validité des analyses de glucose mises en œuvre dans le présent travail correspond donc à des concentrations de sucre inférieures à 10 mg/L. On a souvent recours aux dilutions pour doser le glucose dans certaines solutions.

IV.2.2. Densité cellulaire

Pour mesurer des concentrations en biomasse, on a besoin d'une courbe d'étalonnage représentant la densité optique (ou absorbance) en fonction du nombre de cellules de microorganismes présents dans un volume déterminé. En général, cette concentration en

biomasse est exprimée en cellules/ μL est les mesures sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-vis à la longueur d'onde de 600 nm. Vu le manque de matériel mis à notre disposition, nous avons utilisé la courbe d'étalonnage **Figure IV.2** établie dans l'étude de **Chniti et al. [48]**. Cette courbe est linéaire jusqu'à la limite de 6 kcell/ μL ; son coefficient de détermination est égale à 0,994.

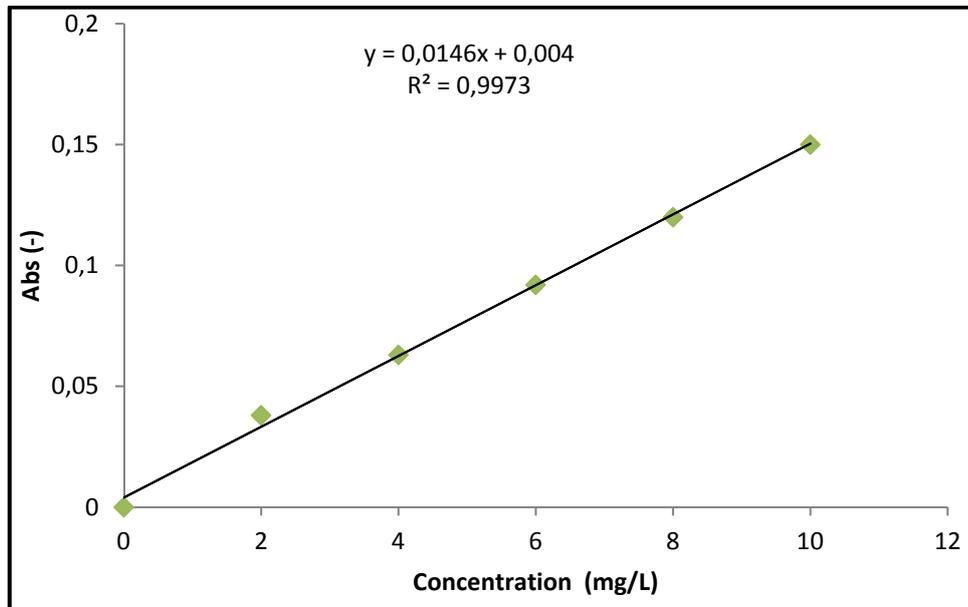


Figure IV.1. Courbe d'étalonnage du glucose obtenu à une longueur d'onde $\lambda=488$ nm

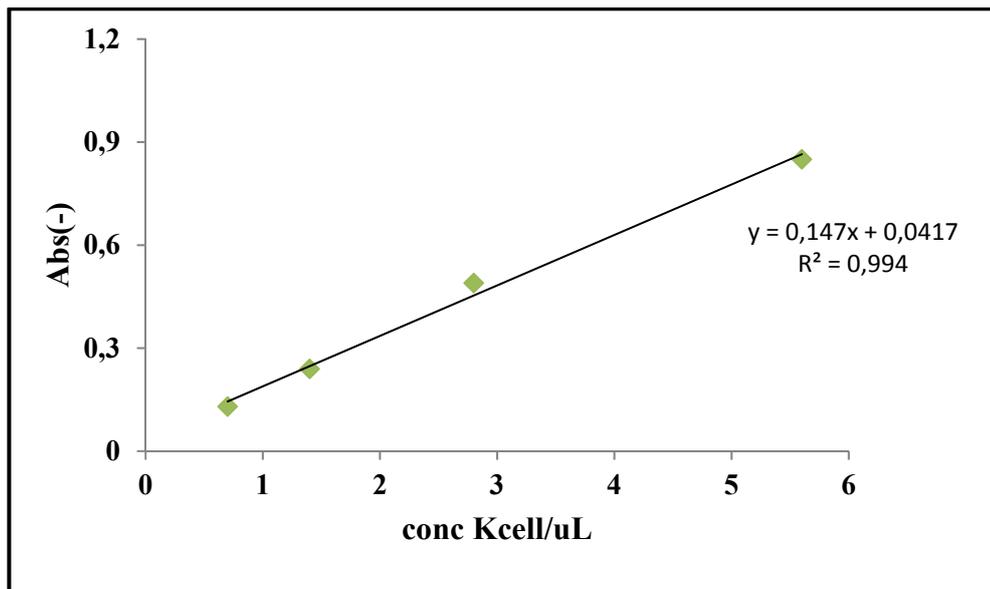


Figure IV.2. Courbe d'étalonnage de la concentration de cellules de levure à $\lambda=600$ nm

IV.3. Caractérisation physicochimique des jus de betteraves et des moûts de dattes avant fermentation

Il est de coutume de caractériser tout produit ou matière entrant dans l'élaboration d'un procédé de synthèse, traitement d'une pollution ou autre. Dans cette étude, des betteraves et des dattes ont servi de matière première pour la production de bioéthanol par fermentation alcoolique.

La betterave, légume cultivé en Algérie, est considérée comme un produit de l'agriculture modérément consommé par la population. Les betteraves utilisées dans ce travail sont de moindre qualité pour pouvoir être prises comme étant des résidus de l'agriculture.

Les dattes algériennes, très convoitées à l'intérieur et à l'extérieur du pays de par leur saveur et leur qualité nutritionnelle, ont pour origine le sud algérien. Les fruits de moindre qualité sont sélectionnés pour élaborer certaines manipulations.

IV.3.1. Propriétés physicochimiques des jus de betterave avant fermentation

Comme il est précisé dans le **Chapitre III**, les betteraves doivent subir un prétraitement pour en extraire un jus utilisé comme substrat dans l'opération de fermentation. Nous avons utilisé trois jus différents avec des valeurs de Brix différentes :

- 1^{er} jus : Jus de betterave concentré tel que : Brix = 4,8
- 2^{ème} jus : jus de betterave dilué deux fois, Brix = 2,2
- 3^{ème} jus : jus de betterave chaulé, Brix = 3,1

Les résultats de mesure de certaines propriétés physicochimiques des trois jus sont mentionnés dans le **Tableau IV.1**.

Tableau IV.1. Caractéristiques physicochimiques des jus de betterave avant fermentation

Paramètre	Jus de betterave		
	Brix = 4,8	Brix = 3,1	Brix = 2,2
pH à 20 °C	4,18	6,66	4,29
Densité à 20 °C	1,01	1,05	0,99
Indice de réfraction à 18 °C	1,3400	1,3374	1,3361
Concentration en glucose (mg/L)	47,14	30,07	17,21
Couleur	Rouge foncé	Rouge très clair	Rouge clair

D'après les résultats des analyses, on constate que les jus de betteraves concentré et dilué ont des valeurs de pH acide ($\approx 4,2$) ; ce résultat est similaire à celui obtenu dans l'étude de **Bouras Hanane et al. [55]**. Cependant, le pH du jus de betterave chaulé est proche de la

neutralité ; ceci est dû au carbonate de calcium (CaCO_3) ajouté lors de l'opération de chaulage. La densité à 18 °C des jus extraits est de l'ordre de l'unité (voisine de celle de l'eau) ; celle du jus dilué est légèrement plus faible que les deux autres et ceci est évidemment dû à la dilution effectuée. La quantité de glucose dans le jus de betterave concentrée est plus grande que celle dans le jus dilué. Aussi, l'opération de chaulage fait probablement perdre un peu de sucre au jus ce qui est constaté dans la concentration de glucose qui est de 30,07 mg/L. Enfin, le jus de betteraves un jus sirupeux plus ou moins visqueux ; il apparaît de couleur rouge qui s'éclaircit légèrement dans le cas où l'extraction s'accompagne de l'opération de chaulage. Cette dernière élimine certaines impuretés et pigments qui contribuent sûrement à la coloration des jus de betterave.

IV.3.2. Propriétés physicochimiques des jus de dattes avant fermentation

Comme pour le premier substrat, du jus de dattes (ou moût de dattes), est extrait suite au prétraitement expliqué dans le **Chapitre III**. Dans ce cas, nous avons utilisé deux jus tels que :

- 1^{er} jus : Moût de dattes concentré avec un Brix = 22,2
- 2^{ème} jus : Moût de dattes dilué : Brix = 12,0

Les résultats de mesure de certaines propriétés physicochimiques des deux jus sont donnés dans le **Tableau IV.2**.

Tableau IV.2. Caractéristiques physico-chimiques des jus de dattes avant fermentation

Caractéristique physico-chimique	Brix=22,1	Brix=12
pH	6,3	4,1
Densité à 20 °C	0,992	0,990
Indice de réfraction à 18 °C	1,3673	1,3361
Couleur	Marron foncé	Marron clair

Le pH du jus de dattes concentré est de 6,3 ; la dilution de ce jus a fait baissé ce pH jusqu'à 4,1. Cette valeur est bénéfique pour le présent procédé car elle très proche de la valeur optimale du pH qui convient bien à la croissance et au métabolisme de la souche *S. cerevisiae* [58]. On constate également un très léger abaissement de la densité du moût de dattes lorsqu'on l'a dilué. La teneur elle est moins importante en la comparant avec les jus de betterave et cela résultent de l'inversion du saccharose par l'invertase au cours de la maturation de la datte en fructose nos résultat sont presque similaire a ceux obtenu par **Zineb sayah et al** [63].

Le jus de dattes est un produit sirupeux de couleur marron foncé à brun, riche en sucre.

IV.4. Fermentation alcoolique

IV.4.1. Aspect morphologique de la souche de levures

La souche de levure *S. cerevisiae* utilisée dans l'opération de fermentation a été observée au microscope optique. Son aspect morphologique est représenté sur la **Figure IV.3**. Les cellules sont arrondies, plus ou moins ovalaires. Elles ont la forme d'un ellipsoïde de révolution dont le grand axe atteint une longueur variant entre 5 et 8 μm .

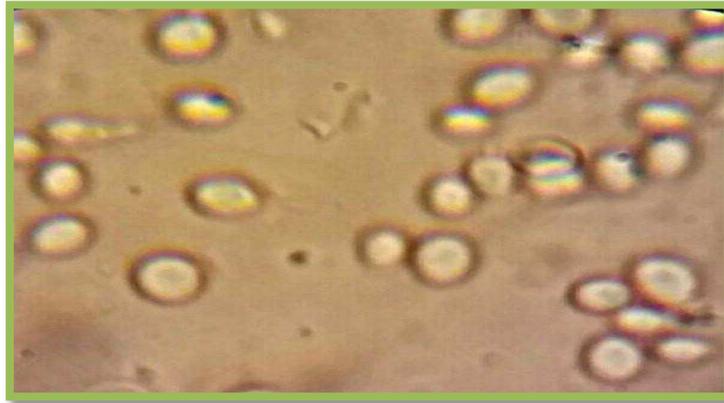


Figure IV.3. Aspect morphologique de la souche *S. cerevisiae* utilisée dans la présente étude

IV.4.2. Déroulement de la fermentation- Premières observations

a) En présence du jus de betteraves

Le temps de fermentation est fixé à trois jours. Le dégagement de CO_2 (voir § IV.2.3) et la formation d'une mousse au début de l'opération sont des indicateurs du bon déroulement de l'opération. La mousse commence à s'atténuer un jour après le début de la fermentation et les levures ont tendance à s'accumuler au fond du réacteur. On pense qu'à ce stade, la croissance ainsi que le métabolisme des microorganismes diminue légèrement. Au bout du troisième jour, nous avons constaté la formation d'un surnageant dans le jus qui à première vue, représente un milieu défavorable pour la culture de la levure (il peut contenir des éléments et composés toxiques tels que les acides gras, l'acide acétique, l'éthanol, etc).

b) En présence du jus de dattes

L'opération de fermentation en présence du jus de dattes en tant que substrat est menée dans des conditions identiques que celles évoquées ci-dessus. Dans ce cas, nous avons observé un bon développement de mousse et un grand dégagement de CO_2 . Juste après 3 h de fermentation, on a pu remarquer une mousse plus épaisse que celle formée dans le jus de betterave et qui a tendance à s'épaissir encore plus avec le temps. Après un jour de fermentation, nous avons constaté un très bon développement de microorganismes, signe d'une grande croissance. Les levures se dispersent aussi bien au fond qu'à la surface du bioréacteur en formant presque une pâte (pâte levurienne). Après 3 h de fermentation, on a

pu remarquer une mousse plus épaisse que celle formée dans le jus de betterave et qui a tendance à s'épaissir encore plus avec le temps. Le jus de dattes représente un milieu favorable à la levure *S. cerevisiae* ; ce milieu contient donc les éléments nutritifs nécessaires à une bonne croissance des champignons. Cependant, avec le temps, les nutriments s'épuisent (fermentation en milieu non renouvelé) et la croissance s'atténue **Figure IV.4** L'accumulation de substances toxiques, produits de la fermentation contribue aussi au ralentissement voir au déclin des microorganismes.



Figure IV.4. Levures cultivées dans un moût de dattes concentré

IV.4.3. Suivi de la croissance de *S. cerevisiae*

La croissance des levures est suivie par mesure de la pression de CO₂ dégagé au cours de la fermentation. Comme indiqué dans le § III.4.9, la méthode utilisée est celle du déplacement de liquide.

a) Courbes de croissance en présence du jus de betterave

Les courbes de croissance de *S. cerevisiae* dans les différents jus de betteraves sont exprimées par la variation du volume de CO₂ en fonction du temps **Figure IV.5**.

Les courbes montrent trois phases distinctes :

- la phase de latence dont la durée est de 30 min. Elle est considérée comme une période d'adaptation des microorganismes au milieu. Elle dépend, en général, de la nature du substrat.
- la phase exponentielle avec une durée moyenne de 150 à 200 min. Là, on observe une grande augmentation de CO₂ dégagé. Cette phase dépendant fortement de la nature du substrat (et donc du Brix) correspond à la phase la plus importante de la croissance des levures.

- la phase de ralentissement (ou phase stationnaire) pendant laquelle, le volume du CO₂ est pratiquement constant. Pendant cette phase, l'essentiel du sucre est fermenté et les levures ne se multiplient plus. Cette baisse d'activité est à la fois due à l'épuisement des nutriments et à l'accumulation de déchets [56].

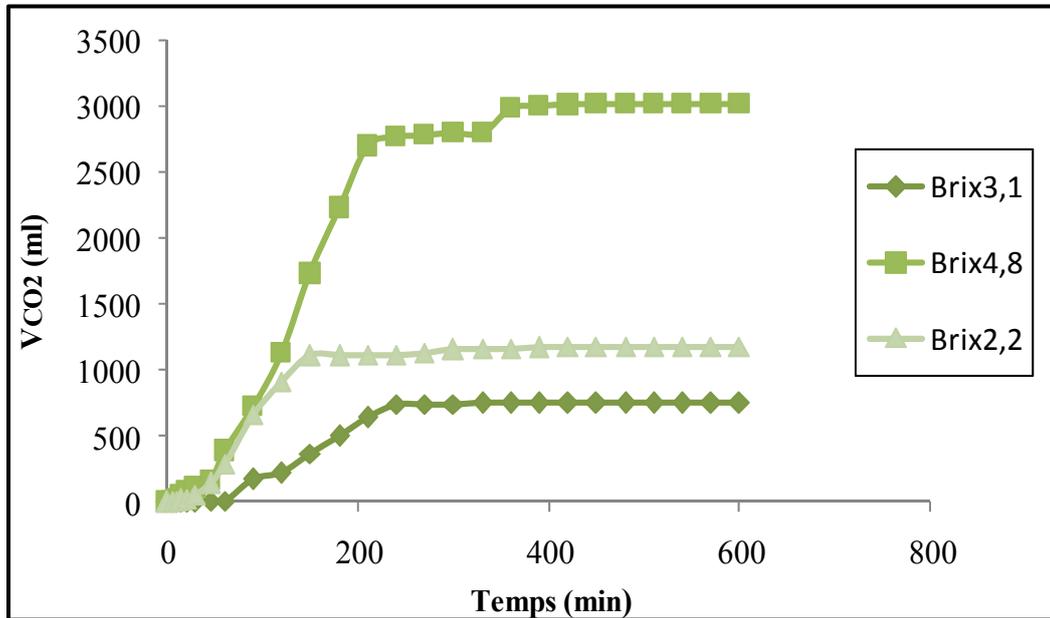


Figure IV.5. Courbes de croissance de *S. cerevisiae* pour les jus de betteraves à différents Brix

La comparaison entre les trois courbes de croissance représentées sur la **Figure IV.5** permet de constater que le substrat à base de jus de betteraves concentré représente le milieu le plus convenable pour l'activité levurienne. En présence de ce substrat, la phase exponentielle est la plus importante en termes de durée. Ce jus contient les éléments essentiels pour le développement des levures en quantités plus importantes que celles des jus de betteraves dilué et chaulé. La croissance des levures en anaérobiose n'a lieu que si les vitamines, les éléments minéraux ainsi que les sucres sont en quantité suffisantes car ils ne peuvent être synthétisés en l'absence d'oxygène [57].

b) Courbes de croissance en présence du jus de dattes

De façon similaire, les courbes de croissance *S. cerevisiae* en présence des jus de dattes concentré et dilué en tant que substrat sont illustrées sur la **Figure IV.6**. L'activité fermentaire des levures est également mesurée par la mesure du CO₂ dégagé. Dans ce cas aussi, on assiste aux une croissance différentes phases. Pour les deux courbes, la durée de la phase de latence est de 30 min ; ce temps est nécessaire aux levures pour s'adapter au milieu dans lequel elle se trouve. La phase exponentielle démarre alors pour durer jusqu'à 250 min pour le jus concentré (Brix = 22,2) elle qu'elle dure jusqu'à 500 min pour le jus dilué (Brix = 12). Les phases stationnaires sont alors enregistrées dans les deux cas. Malgré que le jus de dattes concentré contient une quantité de nutriments (et de sucre) beaucoup

plus importante que celle du jus dilué, la croissance de *S. cerevisiae* est meilleure dans le jus dilué ; ceci peut s'expliquer par une intolérance aux grandes concentrations de sucres qui se manifeste par un ralentissement accompagné sûrement d'un déclin. Cet effet a été largement étudié et démontré dans divers travaux **Acourene S., et al [59]**. Il est alors intéressant de chercher la concentration optimale en sucres (Brix optimal) qui donnerait la meilleure croissance des levures, en particulier la souche *S. cerevisiae*. Cette question sera traitée dans des projets ultérieurs ayant pour objectif de la production optimale de bioéthanol à partir différentes matières premières (résidus, biomasse lignocellulosique, algues,).

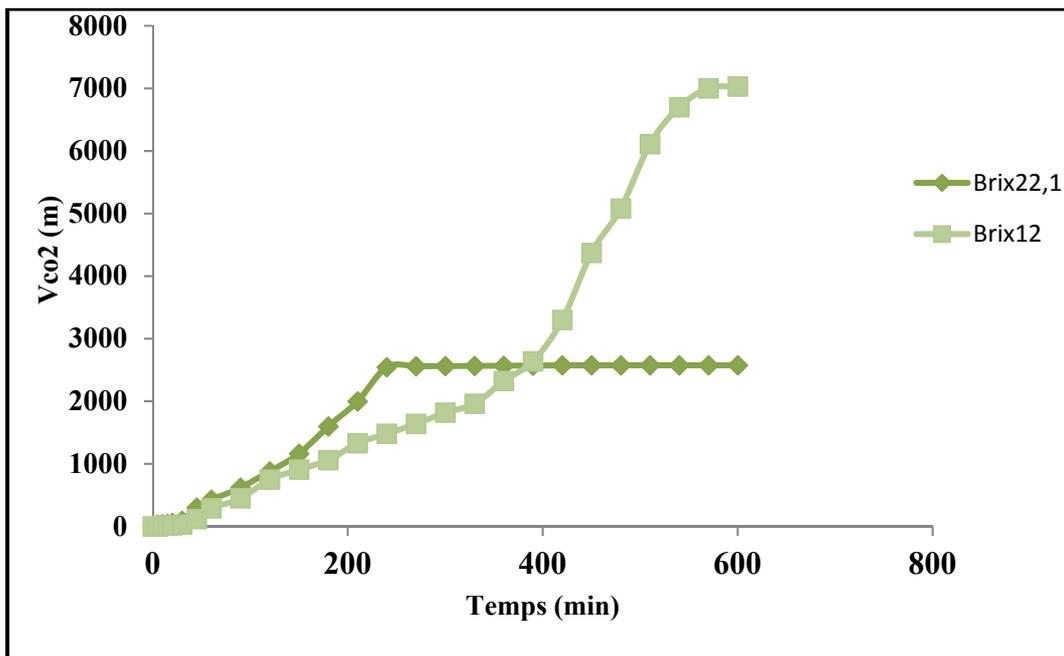


Figure IV.5. Courbes de croissance de *S. cerevisiae* pour les jus de dattes à différentes valeurs de Brix

IV.4.4. Détermination des paramètres de croissance

Les paramètres de croissance qu'on peut déterminer suite aux différentes manipulations sont la vitesse maximale de croissance (U_{\max}) et le temps de génération ($t_{1/2}$).

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. U_{\max} est égale à la pente de la droite représentant la fonction $\text{Log}V_{\text{CO}_2} = f(t)$. Les courbes donnant cette fonction pour les cinq jus testés dans ce travail (trois jus de betteraves et deux jus de dattes) sont illustrées sur la **Figure IV.6**. Les cinq courbes sont linéaires avec des coefficients de détermination proches de l'unité.

Une fois les vitesses U_{\max} calculées, le temps de génération (ou temps de doublement de la biomasse) est déduit en appliquant la relation (**Eq. II.2**) Les paramètres de croissance calculés sont résumés dans le **Tableau IV.3**.

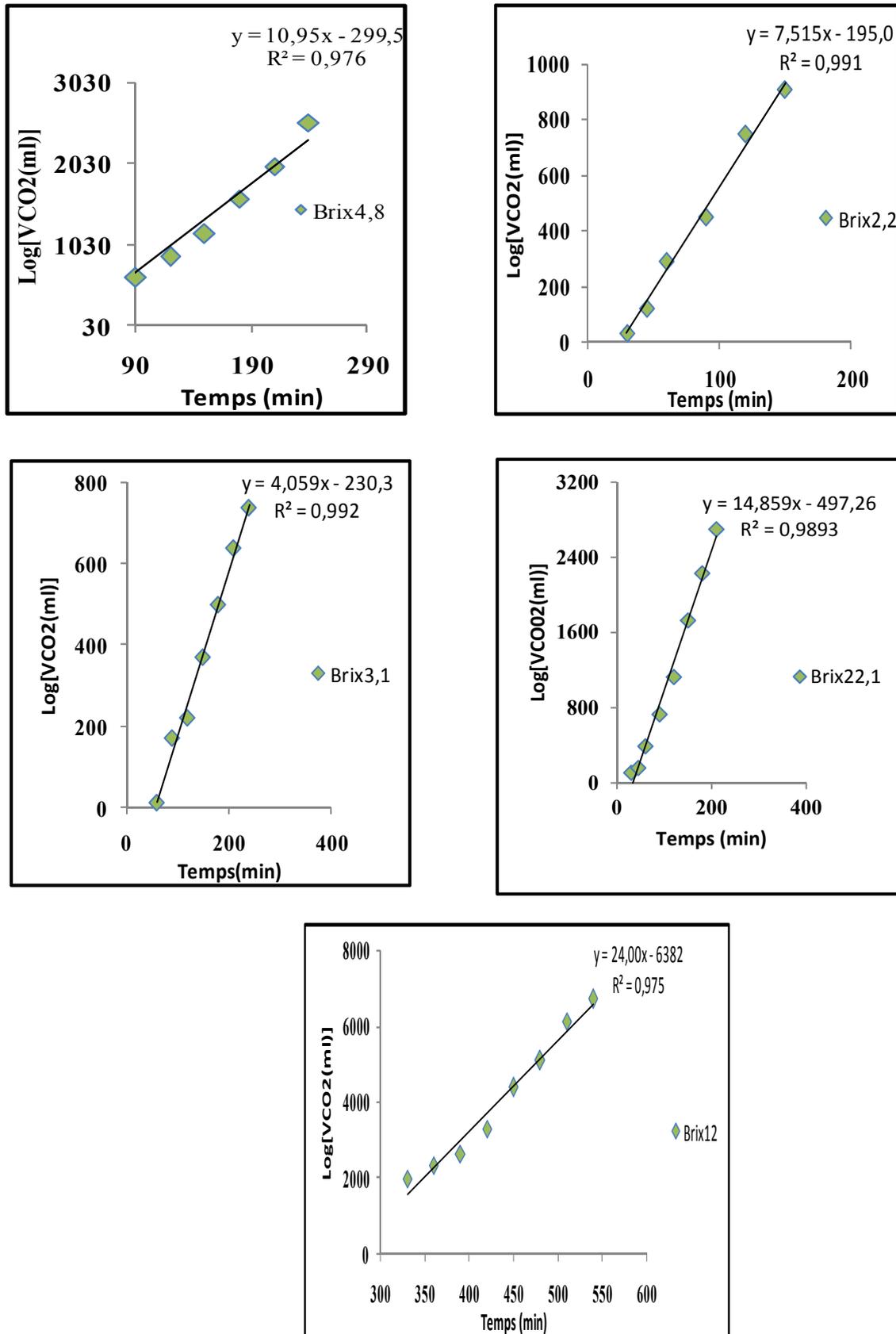


Figure IV.6. Modélisation de la phase de croissance exponentielle pour *S. cerevisiae*- Détermination des vitesses de croissance maximale pour les différents substrats

Tableau IV.3. Détermination des paramètres de croissance de *S. cerevisiae* pour les différents substrats

Nature du substrat	U_{\max} (min^{-1})	R^2 (/)	$t_{1/2}$ (min)
Jus de betteraves concentré	10,95	0,976	0,06
Jus de betteraves dilué	7,52	0,991	0,09
Jus de betteraves chaulé	4,06	0,992	0,17
Moût de dattes concentré	14,85	0,989	0,05
Moût de dattes dilué	24	0,975	0,03

Les valeurs reportées sur le **Tableau IV.3** montrent que la vitesse maximale du moût de dattes dilué est la plus élevée et est égale à 24 min^{-1} . Par ailleurs, le jus de betterave chaulé conduit à une valeur faible ($4,06 \text{ min}^{-1}$) de la vitesse U_{\max} . Ceci veut dire que la souche de levures *S. cerevisiae* s'adapte mieux et préfère comme substrat un moût de dattes dilué. Ce résultat est confirmé par la valeur du temps de génération qui est égal à 0,03 min pour le jus de dattes et 0,17 min pour le jus de betteraves chaulé. Plus la valeur de $t_{1/2}$ est faible, plus les microorganismes se dédoublent facilement. Nos résultats sont un peu différents de ceux reportés dans l'étude de Bacha A et al. Qui rapportent une valeur de $t_{1/2}$ égale à 4h. Par rapport à une souche isolée dans un milieu naturel [61].

IV.5. Caractérisation physicochimique et biochimique des produits de fermentation

Après l'opération de fermentation, certaines analyses ont été effectuées sur le milieu (liquide + levures) afin d'avoir une première vision sur les produits de fermentation. Dans ce cas, en plus des paramètres de caractérisation présentés dans le § IV.3, on a pu analyser les matières sèches et la densité cellulaire révélatrices de la plus ou moins bonne croissance des microorganismes.

IV.5.1. Produits de fermentation en présence des jus de betteraves

Les trois jus de betteraves sont ceux utilisés dans l'opération de fermentation ayant pour Brix les valeurs 4,8 ; 3,1 et 2,2. Les résultats des analyses sont résumés dans le **Tableau IV.4**.

- Une petite variation dans le pH a été enregistrée ; le pH initial a été pris égal à 4,5 (valeur optimale pour le développement de *S. cerevisiae*) [58] et a légèrement diminué suite à la formation de certains acides gras (acide octanoïque, acide decanoïque, acide citrique, ...) éventuellement d'autres produits du métabolisme des levures pendant la fermentation [40].
- La densité du liquide est proche de l'unité (0,97-1,04) ; à ce stade, étant donné que le liquide issu de la fermentation est un mélange de plusieurs composés (produits du

métabolisme de *S. cerevisiae*), cette grandeur n'apporte que peu à la caractérisation des produits de la fermentation.

Tableau IV.4. Caractéristiques physicochimiques et biochimiques des produits de fermentation en présence des jus de betteraves

Paramètre physicochimique	Jus concentré	Jus chaulé	Jus dilué
pH à 20 °C	3,54	4,06	3,7
Densité à 20 °C	0,99	1,04	0,97
Indice de réfraction à 18 °C	1,3355	1,3368	1,3352
Couleur	Rouge foncé	Rouge très clair	Rouge clair
Brix	1,8	2,4	1,5
Concentration en glucose (g/L)	21,93	19,57	5,14
Densité cellulaire (kcell/uL)	6,7	5,6	6
Matière sèches (g/L)	6,7	2,5	4,9

- La coloration du liquide restant rouge même après fermentation du jus de betteraves est révélatrice de la présence des pigments rouges initialement présents dans les résidus du légume. L'opération de chaulage devrait faire disparaître tous les pigments, la couleur rouge a quand même persisté mais avec une intensité moindre. Avec le jus de dattes comme substrat, la couleur est également moins intense dans le cas du jus dilué.
- Le degré Brix mesurant la teneur en saccharose a diminué surtout dans le jus de betteraves concentré. Ceci est dû à sa conversion au cours de l'opération d'hydrolyse. Les quantités restant dans le substrat n'ont pas pu être consommées par les levures étant donné qu'il s'agit de sucres non simples. Une hydrolyse optimale (à rechercher) mènerait à une conversion maximale et une consommation plus grande.
- Un des paramètres indicateurs du bon développement des microorganismes est les matières sèches qui représentent la concentration de la biomasse des levures. Les valeurs des analyses montrent bien que le jus de betteraves concentré conduit à la plus grande concentration en matières sèches.
- La densité cellulaire représente la concentration de cellules vivantes de levures dans le milieu de fermentation. La mesure de l'absorbance à 600 nm révèle la présence de plus de cellules de *S. cerevisiae* dans le bioréacteur alimenté en jus de betteraves concentré.

IV.5.2. Produits de fermentation en présence du jus de dattes

Après la fermentation des substrats de betteraves ayant des valeurs de Brix égales à 22 et 12, les produits (liquide + Biomasse) sont séparés puis analysés. Le **Tableau IV.5** résume les valeurs des analyses de certains paramètres physicochimiques et biochimiques.

Tableau IV.5. Caractéristiques physicochimiques et biochimiques des produits de fermentation en présence des jus de dattes

Paramètre physicochimique	Jus concentré	Jus dilué
pH à 20 °C	4,7	3,9
Densité à 20 °C	0,992	0,965
Indice de réfraction à 18 °C	1,36	1,34
Couleur	Marron clair	Beige
Brix	19,5	4,5
Densité cellulaire (kcell/uL)	3,35	8,40
Matière sèches (g/L)	21,25	43,5

- Le pH est resté inchangé dans le cas où le substrat est le jus de dattes concentré. Avec le jus dilué, on remarque une légère diminution du pH qui est donc dû à la production de certains acides organiques comme il a été expliqué précédemment.
- La densité du liquide est également proche de l'unité (0,992-0,965) et n'apporte beaucoup d'indications sur les produits présents dans le mélange.
- Il y a eu une dégradation dans la couleur du liquide. Particulièrement, avec le jus de dattes dilué utilisé comme substrat, la couleur est beaucoup moins intense que le moût de dattes ayant servi à la fermentation. Cet effet est plus ou moins indicateur de la bonne marche de l'opération de fermentation.
- Il y a eu une grande diminution dans la valeur du Brix notamment pour le jus de dattes dilué. Une bonne quantité de saccharose a pu être convertie en glucose.
- L'analyse des matières sèches dans les deux jus de dattes montrent que le substrat dilué conduit à la plus grande concentration en matières sèches. En présence de ce jus, le développement est encore meilleur qu'avec les jus de betteraves montrant clairement que les dattes constituent une matière première par excellence pour la croissance de *S. cerevisiae* et donc probablement pour la production de bioéthanol. Ceci confirme le résultat trouvé précédemment avec les courbes de croissance. Il faut également noter que le jus de dattes dilué convient mieux aux microorganismes ce qui appuie le résultat

de l'intolérance de *S. cerevisiae* aux très grandes concentrations en sucres dans les milieux de culture et cela on vue de conception.

- La densité cellulaire déterminée avec le jus de dattes dilué représente la plus grande valeur atteinte dans la présente étude. Nous avons noté une valeur de 8,40 kcell/uL ; cette mesure confirme le résultat trouvé avec les matières sèches à savoir le jus de dattes dilué constitue le meilleur substrat pour le développement des levures. Pendant la fermentation, nous avons observé une écume (mousse blanchâtre) très intense comparativement à celle formée avec le moût de dattes concentré **Figure IV.7**. Ce substrat devra donner la meilleure concentration et qualité du bioéthanol produit.

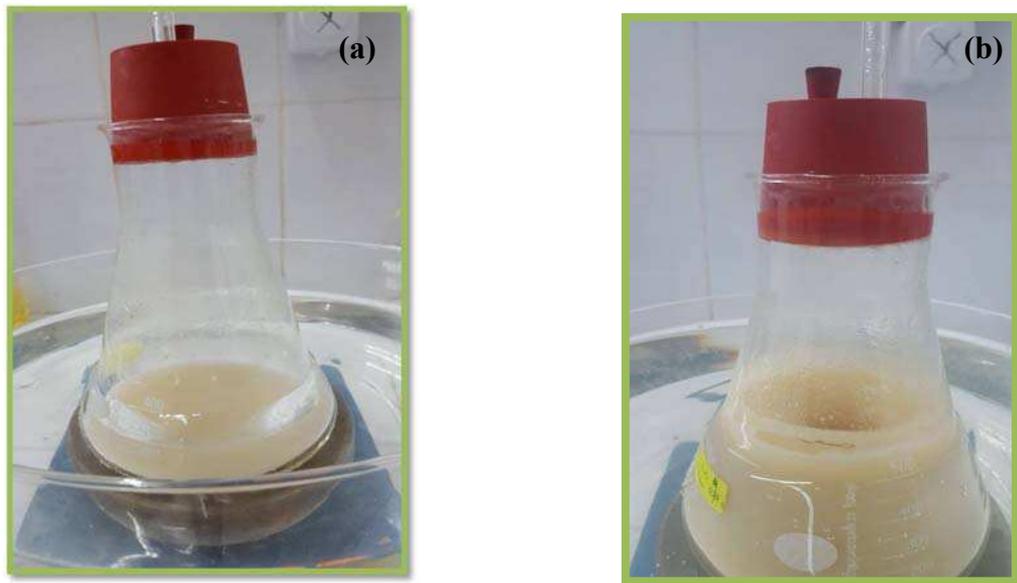


Figure IV.8. Ecume formée durant la fermentation des mouts de datte
(a) Moût de dattes concentré (b) Moût de dattes dilué

IV.6. Etude comparative des différents substrats utilisés avec *S. cerevisiae*

L'efficacité d'un procédé de fermentation est liée à la qualité du milieu de culture utilisé en présence de la souche de levures *S. cerevisiae*. La connaissance de la composition biochimique et physicochimique nous permet de déduire le substrat le plus adéquat pour la croissance et le bon développement des microorganismes. Le **Tableau IV.6** résume quelques données relatives aux substrats utilisés dans diverses études pour la production du bioéthanol. D'après ces données, on remarque que quand « Daglat Nour » est utilisée comme matière première dans la fermentation, à partir d'une valeur de Brix égale à 5, la concentration en matières sèches a été trouvée égale à 30,7 g/L. Ce résultat est considéré comme meilleur que celui trouvé dans la présente étude où de grandes valeurs de Brix (22,1 et 12) ont seulement conduit à 43,5 et 22,25 g/L de matières sèches. La différence réside dans le fait que les conditions opératoires ne sont pas les mêmes ou alors que l'extraction du jus de dattes était différente. On rappelle que dans notre cas, le prétraitement adopté est celui d'une hydrolyse acide et que ce dernier n'est pas toujours le

meilleur. Il est vrai que tester différents prétraitements (hydrolyse enzymatique, explosion à la vapeur, etc.) pour extraire des jus d'une quelconque matière première constitue une étape primordiale pour mener à bien un procédé de fermentation. Ceci sera traité dans des travaux futurs.

Tableau IV.6 Différents substrats utilisés pour la production du bioéthanol

	pH	Densité	°Brix	Matières sèche (g/L)	Référence
Jus de Daglat Nour	5,4	1,04	18	85,77%	[59]
Jus de Deglat Hamraya	6,36	1,05	4	/	[60]
Jus de Daglat Ghars	6	/	12	93,07%	[63]
Jus betterave concentré	4,18	1,008	4,8	6,7	Présente étude
Jus betterave dilué	4,29	0,99	2,2	4,9	Présente étude
Jus betterave chaulé	6,66	1,05	3,1	2,5	Présente étude
Jus de dattes concentré	6,33	0,99	22,1	43,5	Présente étude
Jus de dattes dilué	4,1	0,99	12	21,25	Présente étude

IV.7. Caractérisation du bioéthanol obtenu par fermentation alcoolique

Le présent travail expérimental a pour objectif la mise en œuvre d'un procédé de fermentation en vue de produire du bioéthanol à partir de différents substrats issus des résidus d'agriculture. Après avoir interprété et discuté les étapes antérieures à la séparation de cet alcool (prétraitements, suivi de la croissance des levures et caractérisations des produits de fermentation), il est important d'isoler le bioéthanol et de le caractériser. Une distillation du produit de fermentation a été effectuée sur une solution de 400 ml à la température de 79 °C.

Vu les moyens d'analyses mis à notre disposition et le manque constaté au niveau du gros matériel nécessaire à caractériser notre produit (HPLC par exemple), nous nous sommes contenté de caractériser notre bioéthanol en mesurant sa densité à 20 °C, sa concentration approximative dans la solution et son aptitude à produire une flamme. Le **Tableau IV.7** montre les résultats de ces analyses sur le bioéthanol obtenu à partir des cinq substrats sélectionnés

Tableau IV.7. Caractérisation du bioéthanol obtenu par distillation des différents jus (dattes, betterave)

Substrat	Densité (/)	Volume (ml)	Concentration (g/L)	Odeur	Couleur
Jus de betteraves concentré	0,86	17	36,5	Odeur d'alcool piquante	Liquide incolore
Jus de betteraves dilué	0,85	14,5	30,8		
Jus de betteraves chaulé	0,88	8	17,6		
Jus de dattes concentré	0,86	36,4	78,2		
Jus de dattes dilué	0,88	42	92,4		

La première remarque à faire est que le bioéthanol obtenu dans les cinq cas a une densité de 0,85-0,88 qui est très proche de la valeur de l'éthanol donné dans la littérature. De plus, notre produit a réellement une odeur d'alcool piquante et est très inflammable **Figure IV.8**. Pour les cinq échantillons d'alcool, la flamme est très intense, durable et rappelle celle qu'on obtient avec de l'essence. D'autres analyses (indice d'octane, point d'inflammabilité, ...) auraient donné plus d'indications sur la qualité de cet alcool.



Figure IV.9. Flamme obtenu après la combustion du bioéthanol

D'autre part, on remarque que la concentration du bioéthanol dans le produit de fermentation diffère d'un substrat à un autre. La plus grande concentration est obtenue avec le moût de dattes dilué (92,4 g/L). Contrairement de ce substrat, le jus de dattes chaulé a donné une solution très peu concentré en éthanol, soit une valeur de 17,6 g/L. Ces résultats sont attendus puisqu'on a pu démontrer précédemment que le jus de dattes dilué convenait bien au développement de *S. cerevisiae*. On peut donc conclure que les dattes représentent une bonne matière première pour en extraire un jus utilisé comme substrat de fermentation. Nos résultats sont très comparables à ceux obtenus dans d'autres études [61,62].

IV.8. Conclusion

Les résultats du présent travail expérimental sur la fermentation en batch de jus de betteraves et de dattes montrent que l'on obtienne un alcool très inflammable qu'on peut utiliser comme combustible. Les concentrations en bioéthanol obtenus variaient entre 17 et 92 g/L. La valeur la plus élevée correspond au jus de dattes dilué qui paraît être très riche en composés nécessaires aux développements des levures.

Les levures de type *S. cerevisiae* utilisées dans ce travail ont été choisies pour plusieurs raisons : la disponibilité, la croissance rapide, la résistance à certains contaminants, le pouvoir fermentaire et surtout la capacité de consommer la plupart des sucres.

Les résultats les plus intéressants au terme de ce travail sont :

- L'analyse physicochimique de l'extrait de dattes et de betterave montre la richesse des moûts de dattes en sucres fermentescibles (glucose et fructose) et la richesse des substrats de betterave en saccharose. Ces sucres sont utilisés par les levures comme substrat organique pour la production de biomasse ;
- Pendant la fermentation des jus de dattes et de betteraves, les produits ont pu être caractérisés et identifiés en tant que bons substrats pour les levures ;
- La bonne croissance des levures dans le moût de datte dilué pendant la fermentation est due à l'enrichissement du milieu en composés nécessaires à la croissance des microorganismes. La vitesse de croissance maximale atteinte dans la présente étude est 24 min⁻¹ ;
- La souche de levure *S. cerevisiae* s'adapte mieux dans les moûts de dattes plus que dans les substrats à base de betteraves. Ceci a été mis en évidence par les courbes de croissance à partir desquelles les phases de croissance ont été identifiées ;
- La distillation des différents vins de dattes et de betteraves a conduit à l'obtention d'un bioéthanol de bonne qualité (volatil, inflammable, limpide et possédant une odeur piquante) ; la concentration de ce bioéthanol dans les produits de fermentation diffère d'un substrat à un autres ;

Enfin, les résidus de dattes communes sont considérés comme une bonne matière première à partir de laquelle un très bon substrat de fermentation alcoolique peut être extrait ; ce

substrat, meilleur que celui généré des résidus de betterave sucrière, ne doit pas être très concentré. Une étude d'optimisation de la fermentation pourrait aboutir à une valeur optimale du Brix qui donnerait un bioéthanol de très bonne qualité.

Conclusion générale et perspectives

L'utilisation de la biomasse pour produire du bioéthanol est aujourd'hui largement répandue. Concernant la première génération, de plus en plus de pays utilisent cette technologie, bien qu'elle soit en fin de vie à cause de sa concurrence directe avec le secteur alimentaire. Cette première génération a été indispensable pour développer la deuxième génération de bioéthanol. Cette dernière est plus fiable, mais reste néanmoins encore en concurrence, par rapport au secteur agricole notamment pour l'utilisation de terre potentiellement disponible pour l'élevage.

L'objectif du présent projet était la production de bioéthanol à partir de ressources d'agriculture de deuxième génération qui conduit conjointement à la production de coproduits valorisables commercialement (protéine, acides organiques, etc.)

Le premier acquis de ce travail correspondait à l'exploitation du système micro-organisme/substrats. L'étude a porté plus spécifiquement sur l'analyse de deux filières développées à partir de deux ressources : la betterave sucrière et les dattes. On a pu montrer la capacité de la souche de levure, *S. cerevisiae* à fermenter le glucose en bioéthanol avec un grand dégagement de CO₂ susceptible d'être valorisé. Le substrat de betteraves représentait un bon milieu pour des levures mais un peu moins toléré que le substrat de dattes. Les betteraves est une matière première qui contient une grande quantité de sucres complexes (saccharose) qui exigent un prétraitement poussé pour rendre ce saccharose accessible aux microorganismes. Les moûts de dattes par contre, constituaient un milieu de culture par excellence pour *S. cerevisiae*. La vitesse de croissance maximale atteinte dans la présente étude est 24 min⁻¹. On a pu montrer qu'il était possible de réussir un procédé de fermentation optimal avec une bonne productivité en alcool. Nous avons obtenu dans le présent travail expérimental un bioéthanol de bonne qualité (volatil, inflammable, limpide et possédant une odeur piquante).

Ces résultats permettent d'envisager des études plus approfondies pour la mise au point d'un procédé de valorisation de milliers de tonnes de biomasse produite par les industries agroalimentaires. Ainsi, de nombreuses perspectives découlent de ce projet :

- Une étude plus approfondie des caractéristiques physicochimiques et biologiques des jus extraits de divers résidus agricoles ;
- Une optimisation du milieu de fermentation en déterminant les concentrations optimales du pH et des sucres susceptibles de réduire la phase de latence ;
- L'isolement d'autres microorganismes plus performants capables de d'hydrolyser et fermenter simultanément le saccharose sans passer par un traitement préliminaire afin de diminuer le coût du procédé ;
- Une analyse et séparation complètes des produits de fermentation afin de pouvoir récupérer les composés à valeur ajoutée synthétisés avec le bioéthanol. Ceci pourrait se faire avec des techniques chromatographiques performantes ;

- Enfin, penser à produire du bioéthanol de troisième génération ; à l'état expérimental pour le moment, ceci peut être la solution de demain pour réduire la dépendance énergétique et baisser l'impact négatif des énergies fossiles sur l'environnement. Ce bioéthanol est issu de micro-algues qui sont des ressources renouvelables à l'échelle de la vie humaine. Cependant un inconvénient de taille est encore à considérer: les coûts de production de ce type de bioéthanol restent très élevés.

A l'avenir, plusieurs solutions peuvent être apportées aux problématiques liées au bioéthanol. Concernant la première génération, la séparation du sucre et des protéines pourrait être une solution pour contrer la concurrence à l'alimentation. En effet, le sucre est un produit de « luxe » consacré aux pays riches mais pas indispensable pour la survie de l'humanité contrairement aux protéines. Il serait alors judicieux de créer un processus qui permet de séparer les sucres pour en produire des bioéthanol et les protéines pour qu'ils soient utilisés dans le secteur de l'alimentaire.

- [1] 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, 125pages.
- [2] Saidi A., 2011. La biomasse lignocellulosique et la bioénergie. *Bio énergie et environnement*, n°21, pages 4-5.
- [3] Volle F., Les biocarburants
http://www.iutsd.univparis13.fr/iutsd/images/Developpement_durable/F-VOLLE-Biocarburants
 le11/04/2017
- [4] Dutriez C., Watterlot F., 2014. Comparaison des procédés de production de bioéthanol à base d'amidon. Étude bibliographique, Ecole des mines Douai, 30pages.
- [5] Polleau J., 2002. Caractérisation des biogaz. INERIS DRC-02-27158-AIRE-n°316b-JPo, 31pages
- [6] Paillet F., Taillades G., 2013. Les biocarburants, recherche scientifique. Université Montpellier 2, France, 18pages.
- [7] Bayrakci A., Kaçar G., 2014. Second-generation of bioethanol production from water hyacinth and duckweed in Izmir. *Study.Renewable and Sustainable Energy Reviews*, n° 30, 306-316 pages.
- [8] Akbi A., 2016. Le potentiel algérien en bio énergies. *Revue des Energies Renouvelables*, n°14, 120-122.
- [9] 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.
- [10] BNDES/CGEE Coord., 2008, Bioéthanol de canne à sucre .livre énergie pour le développement durable, Rio de Janeiro, BNDES-CGEE. 1ère édition, 316 pages.
- [11] Akbi A., 2013. Les implications du développement des biocarburants. Thèse de doctorat, Ecole doctorale 513 Droit Et Sciences Politiques, Économiques et de Gestion Nice, Paris, 229 pages.
- [12] Azmah J., Rahmath A., Siti H., Hartinie M., Jualang A., 2016. A review on a third generation feedstock bioethanol. *Renewable and sustainable energy reviews*, 65(6016).pages 757, 758.

- [13] Lorne D., 2011. Le point sur les biocarburants progression des marchés nationaux et internationaux. IFPEN.
- [14] Mauviel G., Dufour A., Lédé J., 2009. Procédés de gazéification et de pyrolyse de la biomasse. *Revue conversation thermo chimique de la biomasse*, Nancy 5.France.
- [15] Naik S., Vaibhav V., Goud, Prasant K., Rout, Ajay K., 2015. Production of first and second generation biofuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, n^o14 pages 578-592.
- [16] Peltier G., 2010. Produire des biocarburants à partir de micro-algues : quels enjeux pour la recherche. Institut de biologie environnementale et biotechnologie CEA, CNRS, Université Aix Marseille, paris, France .49 pages.
- [17] Demirbas M.F., 2009. Biorafinerie for biofuel up grading a critical review. *Appl. Energy*, n^o86, pages 151-161.
- [18] Lestari S. et al., 2009.Transforming triglycerides and fatty acids into biofuel. *ChemSusChem*, 2(12), pages 1109-1119.
- [19] www.breuilletnature.blogspot.com 24/04/2017
- [20] www.uarga.org.com 24/04/2017
- [21] Barchmann H., le potentiel de la biomasse dans les pays méditerranéens. www.europarl.europa.eu/.../pdf/energie_draft_report_biomasse_plus_amendments_fr. 24/04/2017
- [22] www.lewpedagogique.com 25/04/2017
- [23] Riess J., 2012.intensification de la brique « fermentation alcoolique »des substrats betteraviers et autre substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. France ,177pages.
- [24] Ballerini D. ,2002. Production d'éthanol à partir de biomasse. *Revue L'actualité chimique*, n^o 261, pages 83-87.
- [25] Boucherba N., 2015. Valorisation des résidus agro-industriels .mémoire magister, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa, Algérie, 73pages.
- [26] ICDES., 2006. Les biocarburants en Afrique. Travail de recherche, institut de coopération au développement économique et social paris, France, 25pages.

- [27] Didderen I., Destain J., Thonart P., 2008. Procédés de bioconversion en éthanol. In : Le bioéthanol de seconde génération. La production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. Gembloux, Belgique. *Les Presses Agronomiques de Gembloux*, pages 21-56.
- [28] 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.
- [29] http://www.connaissancedesenergies.org/sites/default/files/pdfvue/ifpen_biocarb_urant2emegeneration.pdf 24/04/2017
- [30] Touzi A., Azbbès N., 1988. Avant-projet de Réalisation d'Unité de Production de Bioalcohol, Rapport Intern, Lab. Biotech, Dans les Wilayas de Biskra, Adrar et Ghardaïa, Algérie. 56pages.
- [31] PILON G., 2013. Étude de production et de caractérisation de bio charbon de panic érigé (*panicum virgatum* L) obtenus par pyrolyse. Thèse de doctorat, Université de Sherbrooke, Canada, 192 pages.
- [32] Claisse N., 2012. Préparation et modification d'oligosaccharides de cellulose par chimie douce bio-inspirée .Thèse de doctorat, Université de Grenoble, France, 390 pages.
- [33] Diane S., 2014. Caractérisation et modification des lignines industrielles. Thèse de doctorat, Université Laval Québec, canada, 226 pages.
- [34] épreuves régionales de l'académie de Grenoble [http://www.olympiades-chimie.fr/Concours 2009/Grenoble/Grenoble TP 2009.pdf](http://www.olympiades-chimie.fr/Concours%202009/Grenoble/Grenoble%20TP%202009.pdf) 27/04/2017
- [35] <https://www.google.dz/search?q=réaction+d'hydrolyse+du+saccharose+avec+de+l'acide+dilue> 27/04/2017
- [36] Tesquet G., 2013. Etude de la réaction de Guerbet à partir de bioéthanol sur des oxydes mixtes de type pérovskite .Thèse de doctorat. Ecole Doctorale l'Université de Lille1, 253 pages

- [37] Mounir M., Belgrire M., Lahnaoui S., Hamouda A., Thonart P., Delvigne F., Ismaili 2016. Maîtrise de la fermentation alcoolique sous stress éthanolique, thermique et osmotique de la souche *Saccharomyces cerevisiae* YSDN1 en vue de la préparation du vinaigre de fruits. *Revue. Mar. Sci. Argon.* Vol. 4 (2) pages 86-95.
- [38] wertz J., 2012. Prétraitement de la biomasse lignocellulosique. *Revue rencontre de la biomasse*, n⁰⁹, pages 60-62.
- [39] Kaidi F., Touzi A., 2001. production du bioéthanol à partir des déchets de dattes. *Revue Energie Renouvelable. : Production et Valorisation – Biomasse*, pages 75-78.
- [40] 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 Algerian journal of arid environment*, Vol. 2, n^o 2, pages 78-87.
- [41] Groupe de recherche interuniversitaire Chimie biologique industrielle Génie biologique www.valbiom.be/.../160215_VALBIOM_Pretraitements-biomasse-lignocellulosique. 25/04/2017
- [42] Derbali M., 2012. Conception d'une bioraflinerie de deuxième génération. Master académique .université kasdi Marbach Ouargla. Algérie. 46 pages.
- [43] Fromentin F., Dauriat A., Lucas H., Marchaud D., Sarlos G., 2000. Caractérisation de filière de production de bioéthanol dans le contexte helvétique. *Revue l'office fédérale de l'énergie*, n^o 69809, 120 pages.
- [44] O'Donohue M., 2008. La production de carburant a partir de la biomasse lignocellulosique par voie biologique, *Article OCL*. n^o 3, page 15.
- [45] Rahmath A., Siti A., Siti hajar M A., 2016. a review on third generation bioethanol feedstock, *renewable and sustainable energy reviews*. n^o 65, pages 756-769.
- [46] Acourene S., 2013. valorisation biotechnologique des dates de faible valeur marchande par la production de la levure boulangère, éthanol, acide citrique. Thèse de doctorat, École nationale supérieur d'agronomie El-Harrach Alger, Algérie. 171 pages.

- [47] Novak, M.H., Valorisations non alimentaires des coproduits de la transformation de la Betterave sucrière
<http://www.valbiom.be/files/gallery/valorisationbetteravesucriere1196164806.pdf>
 01/05/2017
- [48] Chiniti S.,Djalal H.,Mnasser H.,2014.residue of dates from the food industry as a new cheap feedstock for ethanol production, *biomasse and bioenrgy revue* .n° 69page 66-70.
- [49] 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.
- [50] Boucherba N., 2015. Valorisation des résidus agro-industriels .mémoire magister, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa, Algérie, 73pages.
- [51] 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.
- [52] Benaouida K., 2008.étude de l’alpha amylase de levures isolées d’un écosystème extrême (sol environnant des sources thermales) et cultivées dans un milieu à base de lactosérum. Mémoire de magistère. Université mentouri Constantine. Algérie, 104 pages
- [53] 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
- [54] Plaucha W., 2001.comparaison des performances techniques des résultats des qualités physico chimique et microbiologique du sirop issu de trois atelier .Mémoire de fin d’étude .université agronomique .université d’état D’Haïti 92 pages.
- [55] Bourrassé H., Bourega A., khineche S., 2006.influence des facteurs physiologiques et nutritionnels sur la production de la biomasse microbienne (levure boulangère).Mémoire de fin d’étude. Université de kasdi Marbah-Ouargla, Algérie.78 pages.

- [56] Bouquadida I., 2016. mise en place d'une nouvelle méthode d'indentification des mélasses toxiques. Mémoire de magistère, Université sidi Mohamed ben Abdullah .Maroc .66pages.
- [57] Henché S., 2000. Utilisation alimentation des levures .Thèse de doctorat, faculté de pharmacie Nancy .France 288pages.
- [58] Almohammed F., 2017. Application des électro technologies pour une valorisation optimisée de la betterave à sucre dans un contexte de bioraflnerie. Thèse de doctorat. Université de technologie, ompiéne Sorbonne, France. 2013pages.
- [59] Acouréne S., Tama M., 2001.Utilisation des dattes de faible valeur marchandes. *Revue energie renouvelable production et valorisation –biomasse*, pages1-10.
- [60] El-hadi D., korteby S chibi S., 2015.production du bio éthanol a partir de rebut de deux variétés de dattes
- [61] Bacha A., 2008. production et étude de l'activité de l'invertase produite par la levure *saccharomyces cerevisiae* sur substrat a base de datte. Mémoire de magister. Université el hadj lakhdar - Batna, Algérie, 98 pages.
- [62] Acourene S., amouche A., Djafri K., 2008.valorisation des rebus de dattes par la production de la levure boulangère de l'alcool et du vinaigre .*Revue science et technologique C-n°28*, pages 38-45.
- [63] Sayah Z., Didi Ould el hadj M., 2010. Étude comparative des caractéristiques physico-chimiques et biochimiques des dattes de la cuvette d'Ouargla *Analyse des Sciences et Technologie*. Vol. 2, N° 1,

Photos des appareils de mesure utilisés dans cette présente étude



Figure A.1. pH-mètre type Inolab 7110



Figure A.2. Spectrophotomètre type Secomam Prim



Figure A.3. Agitateur magnétique type IKAMAG



Figure A.4. Balance analytique



Figure A.5. Centrifugeuse type 80-2 CENTRIFUGE



Figure A.6. Etuve type Memmert



Figure A.7. Refractomètre de type Atago RX-5000



Figure A.8. Microscope type Mastic