

لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة امحمد بوقرة بومرداس  
Université M'hamedBougara de Boumerdès  
Faculté des Sciences



**Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du diplôme de Master II**

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie (SNV)

**Filière :** Science biologique

**Spécialité :** Biochimie Appliquée

**Thème**

**La production de bioéthanol à partir de biomasse**

**Présenté par :**

*Samiha CHABANE*

**&**

*Abir DAF*

**Soutenue le 22/9/2022 devant le jury composé de :**

**Mr M.M. DAHMANI**

**MCB**

**Président**

**Mme S. AKMOUSSI**

**MCB**

**Examinatrice**

**Mr A. AMMI SAID**

**MCB**

**Promoteur**

## *Remerciements*

*On premier lieu nous tenons à remercier le bon Dieu  
de nous avoir donné la foi,  
le courage et la santé pour accomplir et réaliser ce modeste  
travail.*

*Nous remercions notre encadrant Mr Abdallah Ammi  
saidet les membres des laboratoires des départements de  
biologie et de chimie ainsi que ceux de la raffinerie de sucre  
du complexe Cevital à Bejaïa*

*Nous remercions sincèrement Mr Dahmani de nous avoir  
fait l'honneur de présider notre jury,  
ainsi que Mme Akmoussi pour avoir accepté d'examiner  
notre travail.*

*Enfin nous remercions également tous ceux qui ont  
contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*SamihabLabir*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À qui elle m'a soutenu avec ses prières  
mon paradis.*

*, À qui travaille pour mon confort...  
mon bras droit.*

*Maman, papa j'ai tellement de chance de vous avoir dans ma vie.*

*Mes sœurs ,frères et les petits chouchous ,merci d'être toujours à  
mes côtés et me créé cette merveilleuse famille pour moi*

*A toutes mes amies ,mes connaissances*

*Merci pour votre disponibilité et votre soutien moral*

*Samihà*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes parents*

*D'être présents dans ma vie , Pour m'aimer ,m'aider et  
m'encourager et aussi pour votre soutien moral aux moments  
difficiles,*

*Ma sœur et mon frère et mes amies  
Pour leur disponibilité et leur soutien moral*

*MON MARI*

*D'être toujours à mes côtés pour me soutenir, mais surtout  
pour donner du goût à ma vie par son amour*

*Ma belle famille pour son soutien*

*Abir*

## Liste des abréviations

ATP : Adénosine triphosphate

CO<sub>2</sub> : Dioxyde de carbone

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Acide sulfurique

h : Heure

N : Nombre

NPK : Azote – Phosphate -Potassium

NaOH : Hydroxyde de sodium

O<sub>2</sub> : Oxygène

pH : Potentiel hydrogène.

t : Temps

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Structure moléculaire développée de l'éthanol $C_2H_5OH$ en 3D.....	5
<b>Figure 2:</b> Classes des alcools .....	6
<b>Figure 3:</b> Fermentation des substrats sucrés .....	8
<b>Figure 4:</b> Fermentation des substrats amylacés .....	8
<b>Figure 5:</b> Fermentation des substrats lignocellulosiques.....	9
<b>Figure 6:</b> Filières de production de biocarburants de 3 <sup>ème</sup> génération.....	10
<b>Figure 7:</b> Procédé de synthèse de l'éthanol à partir de l'éthylène .....	12
<b>Figure 8:</b> Ressources de biomasse utilisées pour la fabrication d'éthanol.....	18
<b>Figure 9:</b> Solution de mélasse (photo originale ).....	19
<b>Figure 10:</b> Procédé de transformation de la canne à sucre en bioéthanol .....	20
<b>Figure 11:</b> Schéma structural d'une cellule de levure .....	23
<b>Figure 12:</b> Reproduction asexuée d'une levure .....	24
<b>Figure 13:</b> Reproduction sexuée d'une levure .....	25
<b>Figure 14 :</b> Schéma de la glycolyse.....	27
<b>Figure 15 :</b> La levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : vue sous microscope électronique.....	28
<b>Figure 16:</b> La levure <i>saccharomyces cerevisiae</i> (marque saf-instant) (photo originale ).....	33
<b>Figure 17:</b> Pyramide présentant les différentes étapes de production de l'éthanol.....	35
<b>Figure 18:</b> Les bioréacteurs utilisés dans l'étuve (photo originale ).....	35
<b>Figure 19:</b> La dé-javellisation de l'eau du robinet par le charbon actif (photo originale ) .....	36
<b>Figure 20:</b> Ajustement du pH par des solutions et mesure par pH-mètre (photo originale) .....	37
<b>Figure 21:</b> Tube spécial utilisé dans la centrifugeuse (photo originale ).....	38
<b>Figure 22:</b> Montage de distillation de laboratoire utilisé (photo originale ).....	39
<b>Figure 23:</b> Additifs nutritionnels (ou fertilisants) utilisés (photo originale ).....	40
<b>Figure 24:</b> A : Microscope optique      B : cellule de Thoma (photo originale ).....	42
<b>Figure 25:</b> Evolution du pH des trois milieux de la première expérience en fonction du temps avec différentes concentrations de levure .....	45
<b>Figure 26:</b> Evolution du pH des deux milieux de la deuxième expérience en fonction du temps en présence de 0.25 % d'additif nutritionnel avec 2g/l de levure. ....	46
<b>Figure 27:</b> Evolution du taux de brix des trois milieux de la première expérience en fonction du temps avec différentes concentrations de levure. ....	46

**Figure 28:** Evolution du taux de brix des deux milieux de la deuxième expérience en fonction du temps en présence de 0.25% d'additif nutritionnel avec 2g/l de levure.....47

**Figure 29 :** Images sous microscope de la solution sous objectif 40 (photo originale ) .....51

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Propriétés physico-chimiques de l'éthanol.....	10
<b>Tableau II:</b> Avantages et inconvénients de bioethanol.....	15
<b>Tableau III:</b> Principales matières premières utilisées .....	19
<b>Tableau IV:</b> Valeur nutritionnelle de 100g de la mélasse .....	22
<b>Tableau V:</b> Différentes conditions des milieux fermentaires ( première expérience) .....	37
<b>Tableau VI:</b> Différentes conditions des milieux fermentaires (deuxième expérience) .....	40
<b>Tableau VII :</b> Caractéristiques physico-chimiques de la mélasse du groupecevital.....	44
<b>Tableau VIII:</b> Degré et volumes d'éthanol obtenus après chaque distillation.....	48
<b>Tableau IX :</b> Degré et volume d'éthanol obtenus lors de la 2ième expérience durent les quatre distillations.....	49
<b>Tableau X:</b> Comptage cellulaire sous microscope optique à l'aide de la cellule de Thoma de la première expérience ( sans additif nutritionnel) .....	50
<b>Tableau XI :</b> Comptage cellulaire sous microscope optique à l'aide de la cellule de Thoma de la deuxième expérience (en présence d'additif nutritionnel) .....	50



# Sommaire

Introduction générale .....	1
-----------------------------	---

## Partie bibliographique

I.1 Introduction .....	5
I.2 Bioéthanol.....	5
I.2.1 Généralités Classification des alcools .....	5
I.2.2 Définition de bioéthanol.....	6
I.2.3 Les différents générations du bioéthanol .....	7
I.2.3.1 Bioéthanol à partir des plantes sucrières et amylacée de 1 <sup>ère</sup> génération.....	7
I.2.3.2 Bioéthanol à partir des ressources lignocellulosiques 2 <sup>ème</sup> génération.....	8
I.2.3.3 Le bioéthanol à partir des algues 3 <sup>ème</sup> génération .....	9
I.2.4 La différence entre le bioéthanol et l'éthanol .....	10
I.2.5 Propriétés physicochimiques de l'éthanol.....	11
I.2.6 Techniques de la production d'éthanol.....	12
I.2.6.1 Alcool synthétique .....	12
I.2.6.2 Alcool produit par fermentation ou bioéthanol.....	13
I.2.7 L'extraction du bioéthanol .....	13
I.2.8 Purification du bioéthanol .....	14
I.2.9 Utilisations de bioéthanol.....	14
I.2.10 Avantages et inconvénients de bioéthanol.....	15
I.3 la biomasse.....	16
I.3.1 Le rendement en bioéthanol de quelques biomasses .....	18
I.3.2 La mélasse .....	19
I.3.3 Principaux composés de la mélasse.....	20
I.3.4 Valeur nutritionnelle de la mélasse.....	21
I.3.5 Utilisations de la mélasse.....	22
I.4 Les micro-organismes utilisés dans la production d'éthanol.....	23
I.4.1 Les levures .....	23
I.4.1.1 Morphologie.....	23
I.4.1.2 Reproduction .....	24
I.4.1.3 Métabolisme .....	25
I.4.1.4 Les besoins nutritionnels de la levure .....	27
I.4.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	28
I.4.2.1 Classification de la souche <i>saccharomyces cerevisiae</i> .....	29
I.4.2.2 Influence des paramètres environnementaux sur le métabolisme de <i>la saccharomyces cerevisiae</i> .....	29

### Chapitre III

III.1 Lieu de stage et objectif .....	32
III.2 Matériels et réactifs utilisés .....	32
III.3 Analyses physico-chimiques de la mélasse .....	34
III.4 Procédés globaux de la production d'éthanol .....	34
III.5 Les étapes de synthèse de bioéthanol .....	35
III.5.1 Préparation des bioréacteurs .....	35
III.5.2 Traitement des déchets .....	36
III.5.3 Traitement de l'eau potable .....	36
III.6 Préparation des milieux réactionnels .....	36
III.6.1 Première expérience .....	36
III.6.1.1 Culture directe à partir de la levure lyophilisée .....	37
III.6.1.2 Incubation dans l'étuve.....	38
III.6.1.3 La centrifugation .....	38
III.6.1.4 La distillation.....	48
III.6.2 Deuxième expérience .....	49
III.7 Comptage cellulaire.....	41

### Chapitre IV

IV.1 Introduction.....	44
IV.2 Analyse physico-chimique de la mélasse.....	44
IV.3 Evolution de pH .....	44
IV.4 Evolution du taux de Brix.....	46
IV.5 Rendement de la distillation.....	48
IV.6 Résultat du comptage cellulaire .....	50
Conclusion générale .....	52
Références bibliographiques.....	55
Résumé .....	63

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

Les produits énergétiques les plus consommés, sont des produits du raffinage de pétrole et sont parmi les causes principales de la pollution d'air, il existe une augmentation à la consommation de ces produits. Pour cette problématique l'investissement est orienté vers l'énergie durable (l'énergie verte) et renouvelable (énergie éolienne, énergie hydraulique, énergie de biomasse...etc.).

L'avantage des plantes est leur capacité à produire des carburants aux propriétés analogues à celles de pétrole( **Diddrenetetal., 2008**). Dans ce contexte, la conversion de la biomasse en biocarburants semble être une solution de choix pour pallier à ces problèmes environnementaux (**Allouacheet al .,2013** ).

Le biocarburant le plus consommé dans le monde est Le bioéthanol, sa production est issue de la fermentation des matières riches en sucre(**Allouacheet al .,2013** ). Pendant de nombreuses années, la mélasse de canne à sucre a été utilisée comme option pour la production d'éthanol et qui est riche en glucose et en saccharose.

La mélasse est un produit qui provient du processus de raffinage du sucre de canne, sa présence en grande quantité au sein de la raffinerie de cevital de Bejaïa, nous a poussé à mener cette étude afin de valoriser ce produit, qui présente un grand potentiel pour la production du bioéthanol en raison de sa teneur élevée en sucre. Ce produit est actuellement exploité à petite quantité pour l'alimentation de bétails.

Le présent travail consiste à réaliser des fermentations alcooliques de la mélasse à l'aide d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* (où levure boulangère) afin de produire du bioéthanol, en faisant varier quelques paramètres en vue d'obtenir les performances optimales de la fermentation et d'avoir un bon rendement en alcool au final.

Le présent travail est structuré de 3 parties :.....

La première partie relative à une étude bibliographique qui englobe un aperçu sur l'énergie renouvelable et la biomasse, le procédé de fermentation alcoolique ainsi que les microorganismes utilisés dans ce procédé. La seconde partie comprend le matériel et les méthodes d'analyse utilisés ainsi que les conduites pour la réalisation des fermentations alcooliques. Une troisième partie est consacrée aux traitements et discussions des résultats obtenus afin de les valoriser sur le plan scientifique et pratique et en fin on clôture notre étude par une conclusion générale et des perspectives. Nous souhaitons une suite de notre travail par d'autres chercheurs et stagiaires avec d'autres variables pour atteindre un meilleur rendement et en se basant sur les résultats que nous avons trouvés. Le bioéthanol que nous avons fabriqué peut-être destiné au domaine des biocarburants avec une optimisation du rendement à 100 %. Aussi, il pourra servir comme alcool chirurgical à condition de réduire l'arrière odeur de la levure qui pose problème pour celui-ci.

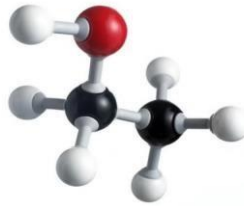
**SYNTHÈSE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## I.1 Introduction

L'éthanol n'est pas considéré comme un nouveau carburant, car il est considéré comme une source majeure d'éclairage depuis 1850, et l'intérêt pour son utilisation comme carburant a augmenté dans les années 70 lorsque les pays exportateurs de pétrole ont réduit leurs approvisionnements en essence (Bevill, 2008).

Il est devenu l'un des basiques du secteur de la santé en tant qu'alcool désinfectant médical. Avec le développement continu de l'industrie et des transports, la demande augmente, et en pensant que l'éthanol issu du pétrole n'est pas renouvelable du fait de la source de sa production, il fallait penser au bioéthanol qui est issu de sources renouvelables.



**Figure 1:** Structure moléculaire développée de l'éthanol  $C_2H_5OH$  en 3D

A notre époque, le développement industriel a prouvé que même les déchets organiques peuvent être utilisés pour obtenir le bio-alcool, en coopération avec des micro-organismes.

Les microorganismes est un terme de biologie qui désigne un type d'organisme vivant, non-visible à l'œil nu à cause de sa petite taille. Il s'agit des bactéries, des levures et des virus... etc. (Bourgeois et al., 1996).

Ce n'est qu'avec les travaux de pasteur dans les années 1866-1876 que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique a été mis en évidence (Eveau, 1993). et qui a donné naissance à la fabrication de boissons alcoolisées et du pain.

## I.2 Bioéthanol

### I.2.1 Généralités et classification des alcools

Les alcools renferment dans leur molécule le groupement fonctionnel hydroxyle OH.

Ils résultent donc théoriquement de la substitution de l'hydroxyle OH à un atome d'hydrogène d'un hydrocarbure. On peut décrire leur formule générale: R-OH (**Lafrentet al., 2001**)

On distingue deux types d'alcool selon leur mode d'obtention :(**Babanadjaret al., 2021**).

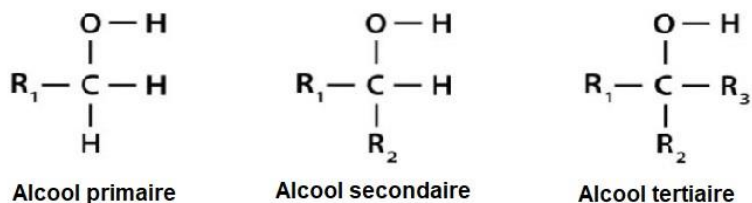
- Les alcools d'origine biologique et agricole comme le bioéthanol qui sont obtenus par fermentation des sucres, à l'aide des microorganismes comme les levures et les bactéries.
- Les alcools de synthèse d'origine pétrolière ; qui sont obtenus par hydratation de l'éthylène, pour obtenir de l'éthanol. Cet alcool, à la différence de l'alcool biologique, est issu d'une ressource fossile.

**Les alcools sont classés selon leur substitution (Lafrent et al ., 2001)**

a) Alcool primaire : le carbone qui porte le OH est substitué par un radical R<sub>1</sub>.

b) Alcools secondaires : le carbone qui porte le OH est substitué par deux radicaux R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>.

c) Alcool tertiaire :le carbone qui porte le OH est substitué par trois radicaux R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>et R<sub>3</sub>.



**Figure 2:**Classes des alcools

### **I.2.2Définition le bioéthanol**

Le bioéthanol ou l'éthanol bio est considéré comme un biocarburant, produit principalement à partir de la fermentation alcoolique de matières premières agricoles:(**Alio, 2020**)

-la canne à sucre.



- la betterave à sucre.
- le maïs.
- les déchets agricoles.
- les déchets forestiers.
- les fumiers de bétail .... Etc.

Après la fermentation alcoolique, l'éthanol se trouve dans un mout contenant principalement de l'eau et des composés provenant de la dégradation de la biomasse, des substances ajoutées au cours du procédé mais également d'autres molécules produites par les microorganismes simultanément à la production d'éthanol .

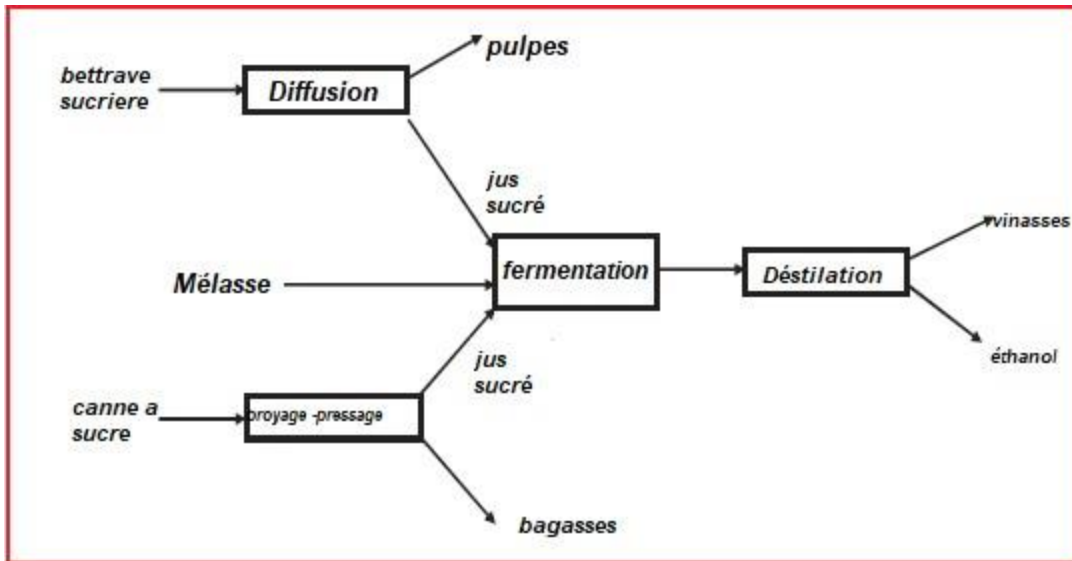
La concentration en éthanol dans la solution est de l'ordre de 10%. Pour obtenir un alcool biocarburant, il faut d'abord le concentrer et le purifier par distillation et rectification. Ensuite, il faut le déshydrater pour éliminer toute trace d'eau (**Diddrenet *al.*, 2008**).

### **I.2.3 Les différentes générations du bioéthanol**

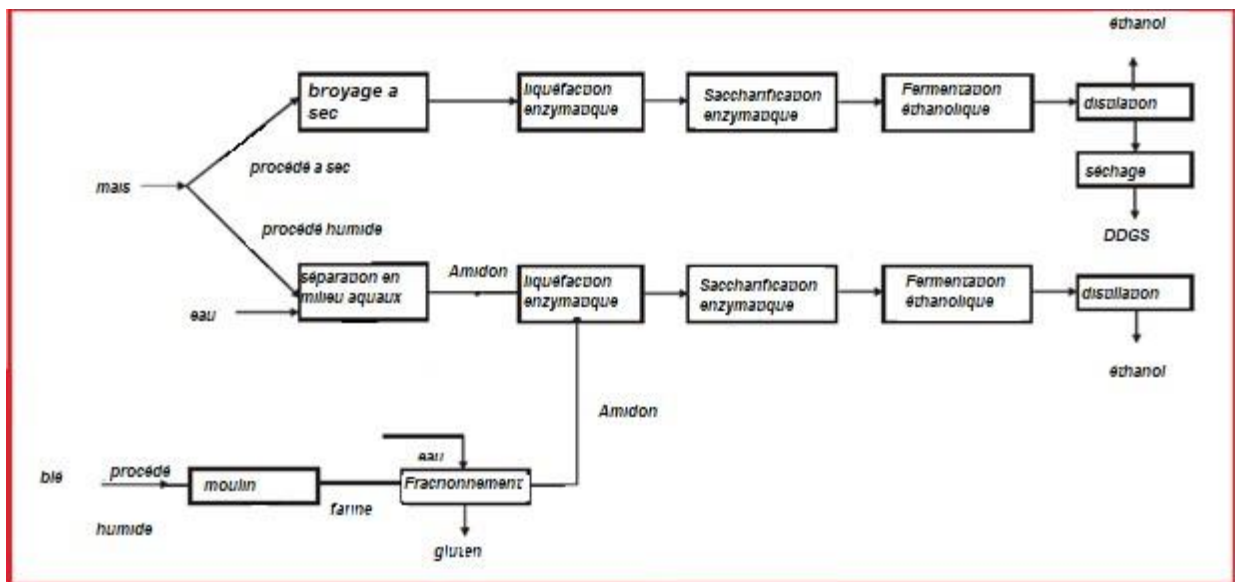
#### **I.2.3.1 Bioéthanol à partir de plantes sucrières et amylacées de 1<sup>ère</sup> génération**

L'éthanol peut être produit directement à partir des jus libres de sucre de certaines cultures, en convertissant le saccharose ou les monosaccharides, en particulier le glucose, en éthanol par fermentation grâce à des microorganismes (**Alio, 2020**)

Ces sucres sont soit directement présents dans la plante (canne à sucre, betterave sucrière ...), soit obtenus après hydrolyse enzymatique de l'amidon contenu dans les grains de blé ou de maïs (**Lestariet *al.*, 2009**).



**Figure 3:** Fermentation des substrats sucrés(Ballerini, 2002).



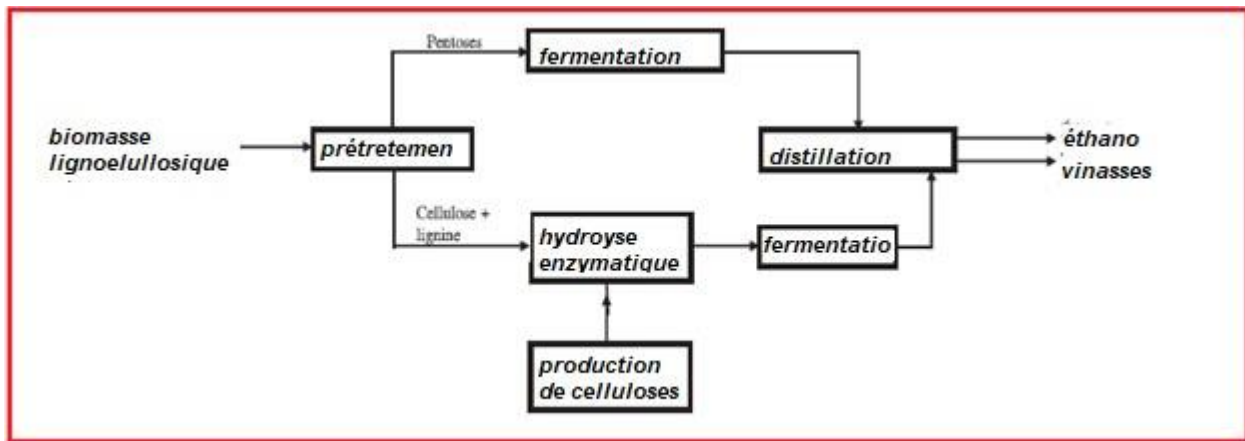
**Figure 4:** Fermentation des substrats amylacés (Ballerini, 2002).

### I.3.1.2 bioéthanol à partir des ressources lignocellulosiques 2<sup>ème</sup> génération

La production de bioéthanol à partir de biomasse lignocellulosique est indirecte, elle nécessite obligatoirement des prétraitements physiques, chimiques ou physicochimiques. ceux – ci ont pour objectif de désolidariser la matrice lignocellulosique et de libérer la cellulose et l’hémicellulose du complexe formé avec la lignine(Didderenet *al.* , 2010).

1. L'expansion industrielle du bioéthanol de deuxième génération a connu l'obstacle du à certains problèmes technologiques .il s'agit du cout 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(Bessaoudet *al .*, 2019) .

Les matériaux lignocellulosiques ont le potentiel d'être utilisés comme matière première pour les biocarburants diesel avancés (par conversion thermochimique) et pour la production d'éthanol cellulosique (par conversion biochimique).



**Figure 5:** Fermentation des substrats lignocellulosiques(Ballerini ., 2002).

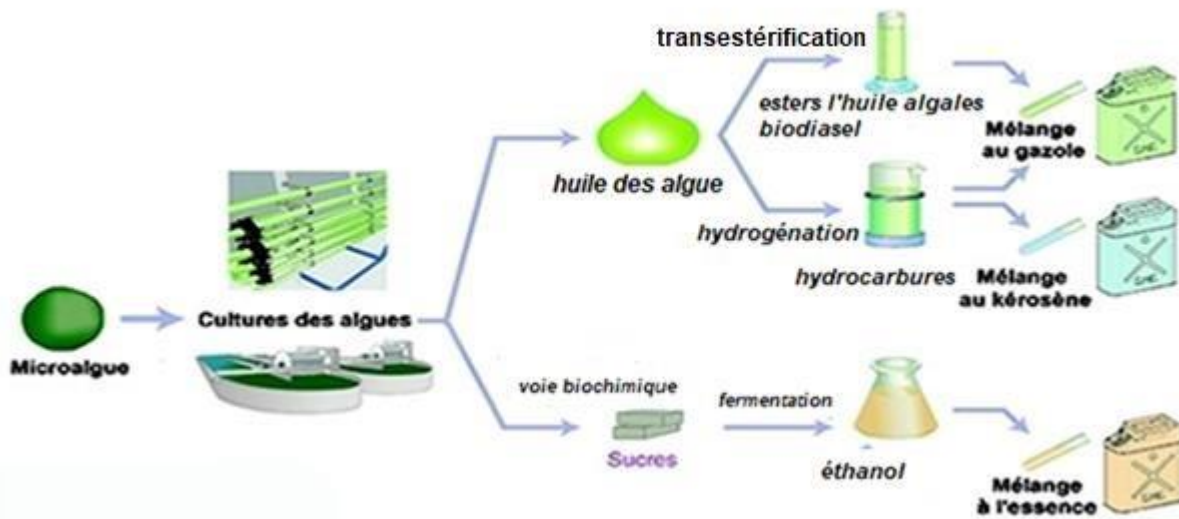
### I.2.3.3 Le bioéthanol à partir des algues 3<sup>ème</sup> génération

Les algues sont considérées comme la matière première potentielle pour la production du bioéthanol de 3<sup>ème</sup> 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. (Fatima,2019).

Les polysaccharides comme l'amidon et la cellulose sont extraits de la biomasse d'algues, en utilisant un cisaillement mécanique ou par hydrolyse enzymatique, après quoi ils sont utilisés pour la production du bioéthanol. L'hydrolyse enzymatique de la cellulose provenant des algues est plus simple que celle de la biomasse végétale due à une présence négligeable ou nulle de lignine dans les algues.

Le principal obstacle à la commercialisation des biocarburants d'algues est le coût des procédés (Murry, 2006)



**Figure 6:** Filières de production de biocarburants de 3<sup>ème</sup> génération

#### I.2.4 La différence entre le bioéthanol et l'éthanol

Les éthanol synthétiques proviennent de matériaux bruts fossiles, alors que les bioéthanol proviennent de matériaux naturels renouvelables. Le bioéthanol et l'éthanol synthétique sont chimiquement indifférenciables, ils ont la même composition chimique  $C_2H_5OH$ . La seule différence entre les deux est la composition isotopique des atomes de carbone.. Une procédure courante pour l'étude des matériaux fossiles est appliquée pour l'ASTM D6866-05: il s'agit de la technique de la datation radiocarbone, connue pour ces utilisations en archéologie et autres études sur les matériaux fossiles. La datation radiocarbone mesure.

L'ASTM D6866 est une technique de la datation radiocarbone, connue pour ces utilisations en archéologie et autres études sur les matériaux fossiles et utilisée pour mesurer le contenu d'un isotope naturellement présent – le carbone 14 – dans les échantillons étudiés, et le compare au contenu dans les matériaux modernes. Selon cette technique, La biomasse comporte du carbone 14 alors que les matériaux fossiles n'en contiennent plus. Il s'est entièrement désintégré avec le temps. La mesure des concentrations en carbone 14 dans un échantillon

d'éthanol montrera s'il a été produit à partir de matériaux renouvelables ou fossiles(Murry, 2006)

### I.2.5 Propriétés physico-chimiques de l'éthanol(Bégi et Gérin 2002 ; Saihia, 2014 ;Chniti, 2015 ).

Le tableau I résume les principales propriétés physico-chimiques de l'éthanol

**Tableau I:** Propriétés physico-chimiques de l'éthanol

Nom UICPA	Ethanol
Formule brute	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
Apparence	Liquide incolore Odeur caractéristique
Masse moléculaire	46,0414 u
Température de fusion	-114,1 °C
Température d'ébullition	78 °C
Masse volumique	0,79 g. cm <sup>-1</sup>
Température d'auto-inflammation	363°C
Température du point d'éclair	16,6 °C
Pression de vapeur	59,3 mmHg à 20 °C
Viscosité	1,20 × 10 <sup>-3</sup> Pa s à 20 °C
Capacité calorifique C <sub>p</sub>	111 J. K <sup>-1</sup> .mol <sup>-1</sup>
Solubilité dans l'eau	Miscible
Indice de réfraction	1,359

## I.2.6 Techniques de production de l'éthanol

### I.2.6.1 Alcool synthétique

L'éthanol est fabriqué en faisant réagir de l'éthylène avec de la vapeur d'eau. La réaction est réversible et la formation de l'éthanol est exothermique. Seuls 5 % de l'éthylène sont convertis en éthanol, à chaque passage dans le réacteur. En éliminant l'éthanol du mélange à l'équilibre et en recyclant l'éthylène, il est possible d'atteindre une conversion globale de 95 %. Il existe cependant une autre voie moins utilisée pour produire de l'éthanol synthétique, à savoir l'hydrogénation ou réduction de l'acide acétique (Alio, 2020)

La réaction chimique (1) mise en jeu est la suivante :

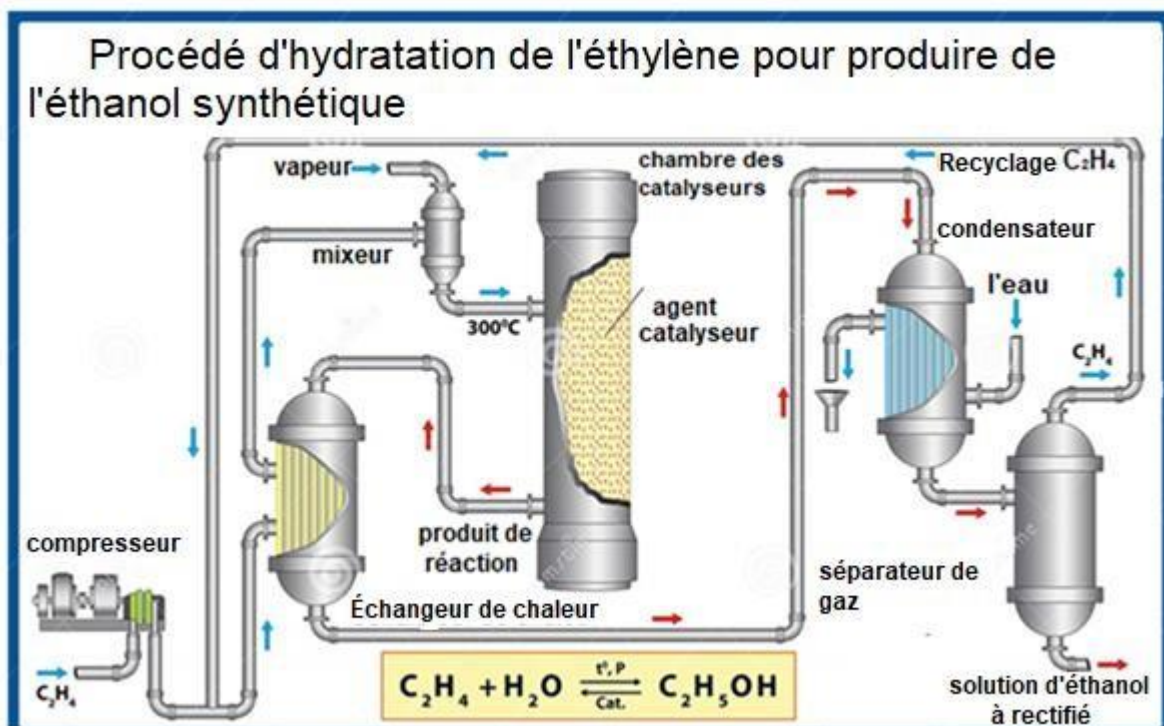
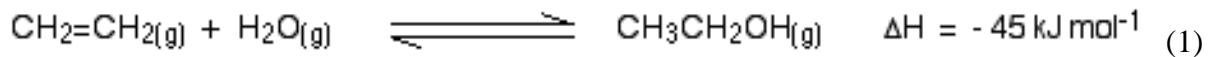


Figure 7: Procédé de synthèse de l'éthanol à partir de l'éthylène (Lestari et al., 2009).

### **I.2.6.2 Alcool produit par fermentation ou bioéthanol**

Les matières premières utilisées dans la fabrication d'éthanol par fermentation sont généralement classées en trois principaux types :

- Les sucres comme par exemple la canne à sucre, betteraves à sucre, mélasse et fruits et qui peuvent être convertis en l'éthanol directement (**Chniti,2015**).
- Amidons : de maïs, de pommes de terre et racines qui doivent d'abord être hydrolysées en sucres fermentescibles par l'action des enzymes du malt ou des moisissures.
- Matières cellulosiques (Amidons Cellulosiques) : à partir de bois, résidus agricoles, déchets de pâte et les papeteries qui doivent également être transformées en sucres, généralement par l'action d'acides minéraux. Une fois que les sucres simples se forment, les enzymes des microorganismes peuvent facilement les fermenter en éthanol (**Cameronetal.,2012**). et en gaz carbonique avec dégagement de la chaleur.

Cette étape de la fermentation se fait grâce à une grande variété de microorganismes et qui produit de l'éthanol à partir de polysaccharides.

Cependant, plusieurs critères sont réellement compétitifs en terme de :

- Rendement d'éthanol par rapport au substrat consommé.
- Capacité fermentaire.
- Tolérance à l'éthanol élevée.
- L'adaptation aux conditions de fermentation.

### **I.2.7 Extraction du bioéthanol**

C'est l'opération classique de récupération de l'alcool éthylique résultant de la fermentation ; elle s'opère dans des colonnes à distillation. 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 sort par le haut, elle se refroidit dans un condenseur et passe à l'état liquide(Acourene,2013).

### **I.2.8 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 (Acourene,2013).

### **I.2.9Utilisations de bioéthanol**

Le bioéthanol est présent dans plusieurs secteurs et applications industrielles, on peut citer:

- Produitspharmaceutiques.
- Détergents et produits de nettoyage
- Peinture et revêtement.
- Encred'imprimerie.
- Lavage d'écran et dégivreur pour l'industrie automobile ...
- Biocarburant comme le E85 = 85 % éthanol + 15% essence.



### I.2.10 Avantages et inconvénients du bioéthanol (Riess,2012)

Les avantages et inconvénients du bioéthanol sont regroupés dans la tableauII suivant :

**TableauII:**Avantages et inconvénients de bioethanol

<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
Diminution de la dépendance au pays producteurs de pétrole	L'éthanol contient une proportion d'eau qui provoque la corrosion
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
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
Stimulation du milieu rural	Concurrence entre alimentation et énergie

### **I.3 La biomasse**

La biomasse est organique, ce qui signifie qu'elle est constituée de matériaux provenant d'organismes vivants, tels que les plantes et les animaux. Les matériaux de biomasse les plus couramment utilisés pour l'énergie sont les plantes, le bois et les déchets. C'est ce qu'on appelle les matières premières de la biomasse.

La biomasse contient de l'énergie d'abord dérivée du soleil : les plantes absorbent l'énergie du soleil par la photosynthèse et convertissent le dioxyde de carbone et l'eau en nutriments (glucides). L'énergie de ces organismes peut être transformée en énergie utilisable par des moyens directs et indirects. La biomasse peut être brûlée pour créer de la chaleur (directe), convertie en électricité (directe) ou transformée en biocarburant (indirecte).

La biomasse comme les déchets des usines de papier ou de bois peut être brûlée par conversion thermique et utilisée pour l'énergie. La conversion thermique consiste à chauffer la matière première de la biomasse afin de la brûler, la déshydrater ou la stabiliser. Différents types d'énergie sont créés par la cuisson directe, la co-combustion, la pyrolyse, la gazéification et la décomposition anaérobie. Avant que la biomasse puisse être brûlée, cependant, elle doit être séchée. Ce processus chimique s'appelle la torréfaction. Pendant la torréfaction, la biomasse est chauffée à environ 200° à 320°C. La biomasse se dessèche et perd environ 20 % de sa masse d'origine, mais conserve 90 % de son énergie. Ensuite la biomasse devient un matériau sec et noirci et compressé en briquettes. La plupart de ces briquettes sont brûlées directement. La vapeur produite pendant le processus de cuisson alimente une turbine, qui fait tourner un générateur et produit de l'électricité. Cette électricité peut être utilisée pour la fabrication ou pour chauffer des bâtiments.

La pyrolyse est une méthode connexe du chauffage de la biomasse. Pendant la pyrolyse, la biomasse est chauffée entre 200° à 300° C sans la présence d'oxygène. Cela l'empêche de brûler et provoque une altération chimique de la biomasse. Le gaz de synthèse produit par la pyrolyse peut être converti en carburant (comme le gaz naturel synthétique). Il peut également être converti en méthane et utilisé en remplacement du gaz naturel.

La biomasse peut également être directement convertie en énergie par gazéification. Au cours du processus de gazéification, la biomasse est chauffée à plus de 700 ° C avec une quantité contrôlée d'oxygène. Les molécules se décomposent et produisent du gaz de synthèse et des scories. Ce dernier peut être brûlé pour produire de la chaleur ou de l'électricité, ou être transformé en biocarburants ou produits chimiques et engrais pour le transport. Des usines de gazéification industrielle sont construites partout dans le monde. L'Asie et l'Australie construisent et exploitent le plus d'usines de ce genre.

La décomposition anaérobie (ou pauvre en oxygène) est le processus par lequel les microorganismes, généralement des bactéries, décomposent la matière en l'absence d'oxygène. La décomposition anaérobie est un processus important dans les décharges, où la biomasse est broyée et comprimée, créant un environnement anaérobie. Ici la biomasse se décompose et produit du méthane, qui est une source d'énergie précieuse. Ce méthane peut remplacer les combustibles fossiles.

La biomasse est la seule source d'énergie renouvelable pouvant être convertie en biocarburants liquides tels que l'éthanol et le biodiesel. Le biocarburant est utilisé pour alimenter les véhicules et les usines de gazéification dans des pays comme la Suède, l'Autriche et les États-Unis.

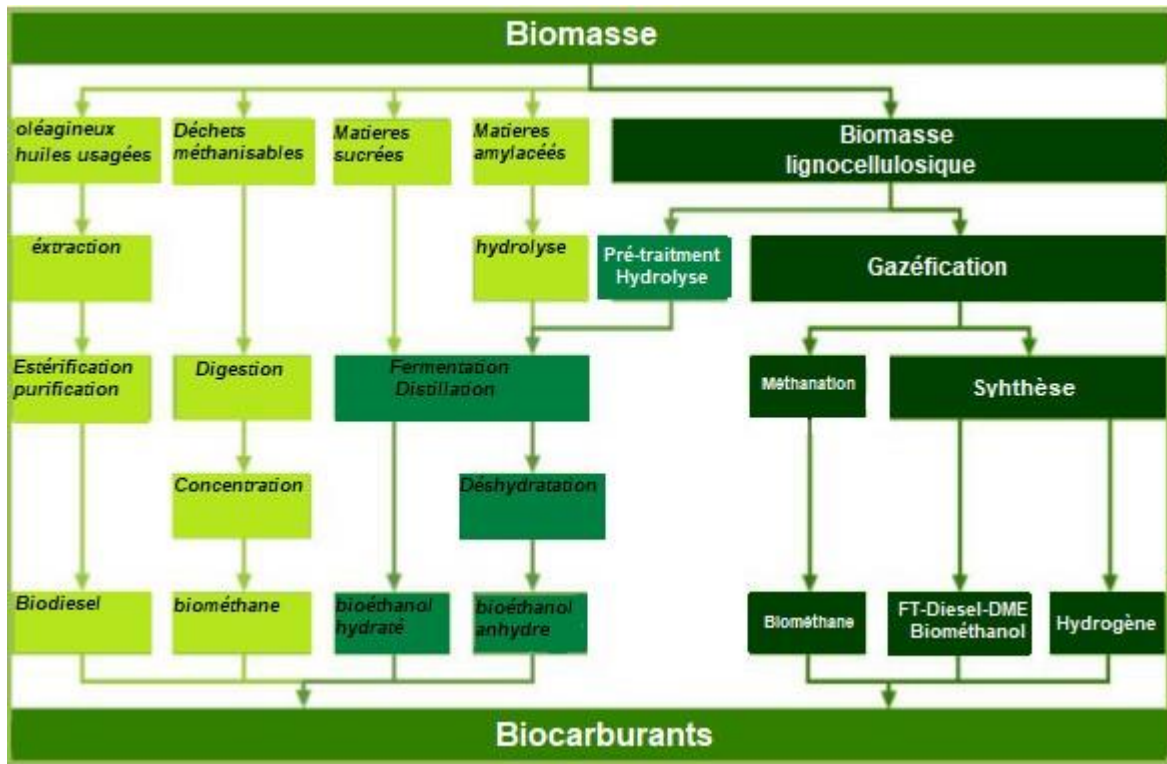
L'éthanol est fabriqué en fermentant une biomasse riche en glucides, comme la canne à sucre, le blé ou le maïs. Le biodiesel est fabriqué à partir de la combinaison d'éthanol avec de la graisse animale, de la graisse de cuisson recyclée ou de l'huile végétale.

Les biocarburants ne fonctionnent pas aussi efficacement que l'essence. Cependant, ils peuvent être mélangés à de l'essence pour alimenter efficacement les véhicules et les machines, et ne libèrent pas les émissions associées aux combustibles fossiles.

L'éthanol nécessite des surfaces énormes de terres agricoles pour faire pousser des cultures biologiques (généralement du maïs). Mais cette superficie est alors indisponible pour les cultures à des fins alimentaires ou autres. Cultiver suffisamment de maïs pour produire de l'éthanol crée également une pression sur l'environnement en raison du manque de variation dans les plantations et de l'utilisation élevée de pesticides.

L'éthanol est devenu un substituant populaire au bois dans les foyers résidentiels. Lorsqu'il est brûlé, il dégage de la chaleur sous forme de flammes et de vapeur d'eau au lieu de fumée.

Les différentes ressources de biomasse utilisées pour la fabrication d'éthanol sont regroupées sur la figure 8(Akrimi *et al* , 2020)



**Figure 8:**Ressources de biomasse utilisées pour la fabrication d'éthanol.

### I.3.1 Le rendement en bioéthanol de quelques biomasses

Le tableau suivant regroupe les principales matières utilisées pour la fabrication du bioéthanol avec leurs rendements de fabrication.

**Tableau III:**Principales matières premières utilisées pour la fabrication du bioéthanol

Matière première	Rendement en bioéthanol (litre /tonne)	Référence
Canne à sucre	83	<b>(Ballerini 2006)</b> <b>(Teagasc research centre .2002).</b>
Orge	320	
Betterave à sucre	100	
Blé	350	
Paille	183	<b>(Le, P. T2013).</b>
Pomme de terre	120	
La mélasse	300	
Herbe	150	

Ceci montre que le bioéthanol peut être produit à partir de n'importe quelle biomasse contenant des quantités significatives d'amidon ou de sucres.

### **I.3.2 La mélasse**

La mélasse issue de la canne de sucre est l'effluent final obtenu après la cristallisation du sucre. C'est une solution très visqueuse (figure 9). Elle contient du saccharose, ainsi que du glucose, du fructose, de l'eau et des minéraux. La mélasse produite atteint 3 à 5% de la production totale de sucre. La quantité de mélasse obtenue dépend de la nature de la canne (Conditions locales de croissance et effets de la météo) **(Christon et Dividich ., 1978)**.



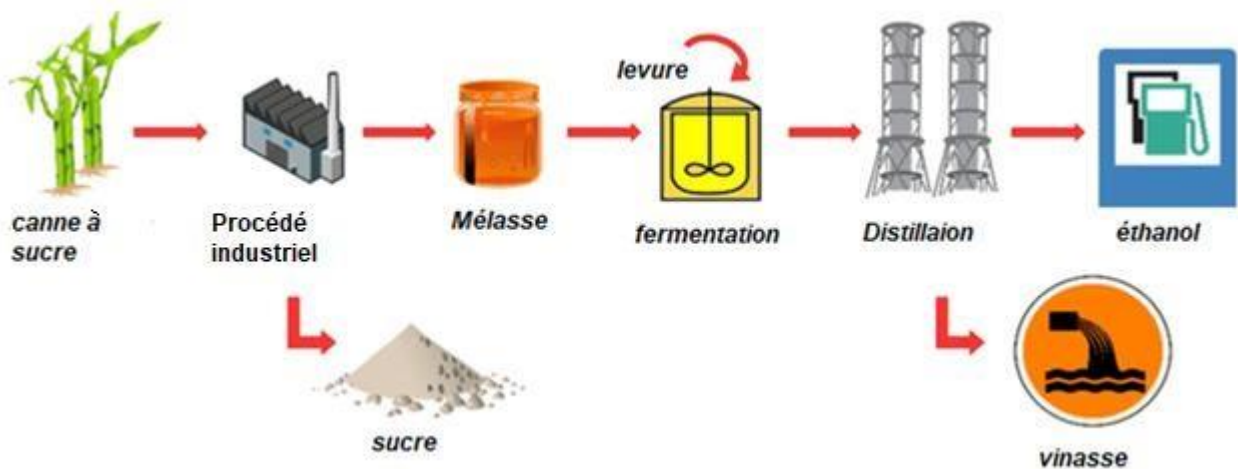
**Figure 9:** Solution de mélasse (photo originale )

La composition de mélasse dépend des processus de transformation à l'usine de sucre, telles que :

- L'efficacité de la clarification des jus.
- La méthode de cristallisation pendant l'ébullition.
- La séparation des cristaux de sucre.

La mélasse de canne est très acide et a une odeur fruitée aromatique ou de caramel. Ce n'est pas une solution homogène liquide et contient toujours des composés suspendus en quantités variables (**Christon et Dividich, 1978**).

Une partie de la mélasse est transformée, par fermentation et distillation, en alcool ; une autre sert de substrat pour la culture de levures. Aussi, son utilisation extensive dans l'alimentation animale est présente (**Besson et Gallezot, 2003**)



**Figure 10:** Procédé de transformation de la canne à sucre en bioéthanol (*Dufour, 2017*)

### I.3.3 Principaux composés de la mélasse(Christon et Dividich,1978).

La mélasse est un coquetel de matières minérales et organiques dont on cite :

#### - L'eau:

La mélasse produite contient 12-17% d'eau, mais en industrie elle est diluée pour assurer un pompage facile lors de son transport et également nécessaire pour la production d'éthanol

#### - Composés organiques sucrés:

Les valeurs des sucres dans la mélasse de canne varient dans de larges gammes selon l'origine des produits. Le saccharose est un des principaux composés sucrés dans la mélasse. D'autres composés organiques tel que le glucose et le fructose sont formés par dégradation

thermique du saccharose durant la production du sucre. La teneur en saccharose est comprise entre 25% et 40%, la teneur en sucres réduits est comprise entre 12% et 30%, dont celle de glucose est de 14% et celle de fructose est de 16%. Ainsi, la teneur en sucres totaux est supérieure à 50%.

- **Composés organiques azotés:**

Les composés organiques azotés sont des composants non sucrés et contenant de l'azote.

Ils représentent environ 8% ou plus dans la mélasse, et correspondent essentiellement à des acides aminés (acide aspartique principalement) et la faible partie restante étant l'azote de protéines, d'ammoniaque et des nitrates.

- **Autres composés organiques:**

On trouve également des acides carboxyliques tels que l'acide oxalique, l'acide lactique, l'acide saccharique et des acides humiques. Ils sont formés au cours de la purification du jus de canne et sont analysés en très faible quantité dans la mélasse

- **Composés inorganiques:**

Les composés inorganiques contenus dans la mélasse proviennent du sol lors du développement des cannes. Suivant le sol ou le processus de production du sucre, la quantité de cendres varie légèrement

### **I.3.4 Valeur nutritionnelle de la mélasse**

Le tableau IV regroupe la valeur nutritionnelle de 100g de la mélasse.

**TableauIV: Valeur nutritionnelle de 100g de la mélasse(Rakotary ,2018)**

<b>Apporténergétique</b>		<b>Minéraux et oligo-éléments</b>	
Calories	290kcal	Calcium	205mg
Joules	1213kJ	Fer	4.72mg
<b>Principaux composants</b>		Magnésium	242mg
Sucre totaux	74.73g	Phosphore	31mg
Amidon	0.01g	Potassium	1464mg
Fibresalimentaires	0g	Sodium	37mg
Protéines	0g	<b>Vitamines</b>	
Lipide	0g	Vitamines B3(ou PP)	0.930mg
Eau	21.87g	Vitamines B6	0.670mg

### **I.3.5Utilisations de la mélasse**

La mélasse est utilisée dans le domaine de la production :

- D'alcool.
- De levure.
- Des aromes.
- De l'aliment de bétail.
- Des produits pharmaceutiques.



#### I.4 Les micro-organismes utilisés dans la production d'éthanol (la fermentation alcoolique)

Les levures (*Saccharomyces cerevisiae*, *saccharomyces uvarum*, *schizosaccharomycespompe*, *kluyveromyces* sp) et les bactéries, comme *zymomonasmobilis*, sont les plus utilisées (Tirichine, 2017).

les mieux adaptés à la fermentation alcoolique à partir de sucres fermentescibles sont les levures du genre *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* (Cameron, 2012)

##### I.4.1 Levure

###### I.4.1.1 Morphologie

1. Les levures sont de formes variables, sphérique à cylindrique, allongées, apiculées, dont la taille ne dépasse guère 6 à 8 millièmes de millimètre avec présence de 1 à 4 d'ascospores par asque à paroi lisse. Lorsqu'on observe une levure au microscope électronique, on distingue, une paroi cellulaire, une membrane cytoplasmique, un cytoplasme, un noyau, des vacuoles, des ribosomes et des mitochondries (Acourene, 2013).

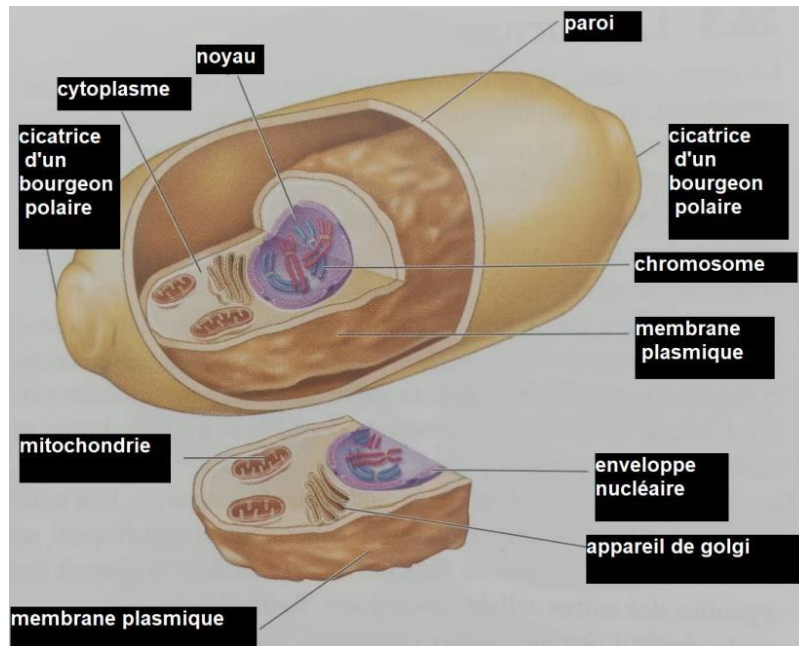


Figure 11: Schéma structural d'une cellule de levure (Prescot *et al.* , 2010).

### I.4.1.2 Reproduction

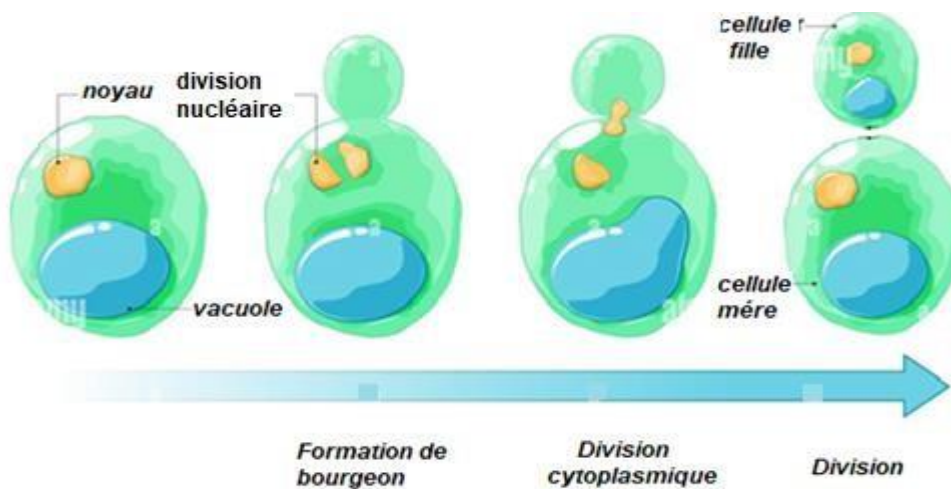
La plupart des 1 500 espèces de levures connues, telles que celles impliquées dans la fabrication de pains et de vins, se reproduisent principalement de manière asexuée par bourgeonnement. La reproduction sexuée est connue, mais elle est rare. Cependant, les espèces de levures infectieuses les plus nocives étaient considérées comme exclusivement asexuées jusqu'à présent.

Les levures se reproduisent selon deux modes : sexué et asexué.

#### a) La reproduction en mode asexué

Il existe de nombreux types de production asexués. La division cellulaire mitotique, le bourgeonnement, les boutures de plantes et la régénération animale sont autant de types de reproduction asexuée. Les levures sont de petits champignons unicellulaires qui sont utilisées dans le pain, fromage bleu et antibiotiques. La plupart des levures ne peuvent vivre qu'en mangeant des sucres et des amidons. Leurs sous-produits métaboliques sont le dioxyde de carbone et l'alcool.

Les levures se reproduisent généralement de manière asexuée par une méthode appelée bourgeonnement. Un petit bouton ou bourgeon se forme sur la cellule mère, se développe et se sépare finalement pour devenir une nouvelle cellule de levure. Cette nouvelle cellule est génétiquement identique à la cellule de départ. Ce mode est une caractéristique de la levure de type *Saccharomyces* et *Debaryomyces* (Fakruddinet *al*, 2013)

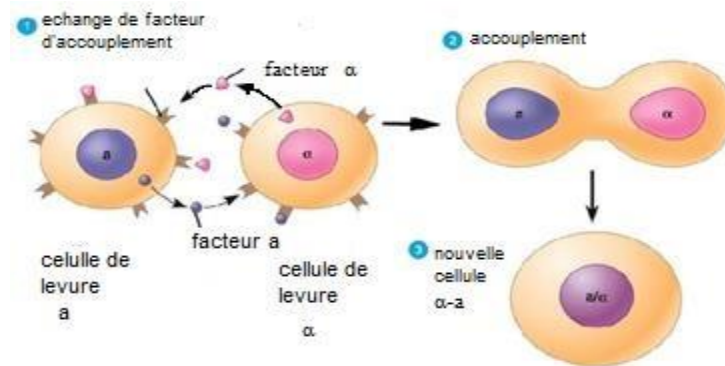


**Figure 12** : Reproduction asexuée d'une levure (Fakruddinet *al*, 2013)

### c) La reproduction en mode sexué

Dans des conditions défavorables, la multiplication est sexuée. Une cellule de levure diploïde porule donnant quatre spores ou ascospores contenues dans un sac appelé «asque»(Figure 14). Après éclatement de ce dernier, les ascospores peuvent se diviser pour donner des cellules haploïdes, puis par fusion de deux cellules on obtient un zygote qui est diploïde.(Marson, 2015).

2. La spore diploïde est une forme de résistance soit aux conditions extrêmes, soit comme moyen de protection du génome contre l'accumulation de mutation (Prescotet al.,2010).



**Figure 13 : Reproduction sexuée d'une levure (Guinet et al ., 1994).**

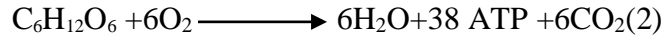
#### I.4.1.3 Métabolisme

La levure commence comme par une première étape appelée glycolyse, qui donne formation de pyruvate par dégradation des glucides. La présence ou l'absence d'oxygène déterminera l'étape suivante. En présence d'oxygène (aérobie) le procédé est appelé respiration. Par contre en absence d'oxygène, il s'agit d'une fermentation (anaérobie).

- **Respiration**

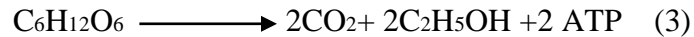
Cette voie métabolique aérobie est très énergétique et qui permet aux cellules de subir une multiplication rapide avec un rendement cellulaire élevé (le rendement étant défini par le quotient de la quantité de cellules fabriquées par le substrat sucrés consommé)

Le bilan de la respiration cellulaires est de 38 molécules d'ATP (Adénosine Tri-phosphate)



- **Fermentation**

En absence d'oxygène, certaines levures peuvent privilégier une dégradation des glucides par un métabolisme fermentatif moins énergétique qui conduit de manière lente à la formation d'éthanol et de CO<sub>2</sub> suivant l'équation (3)

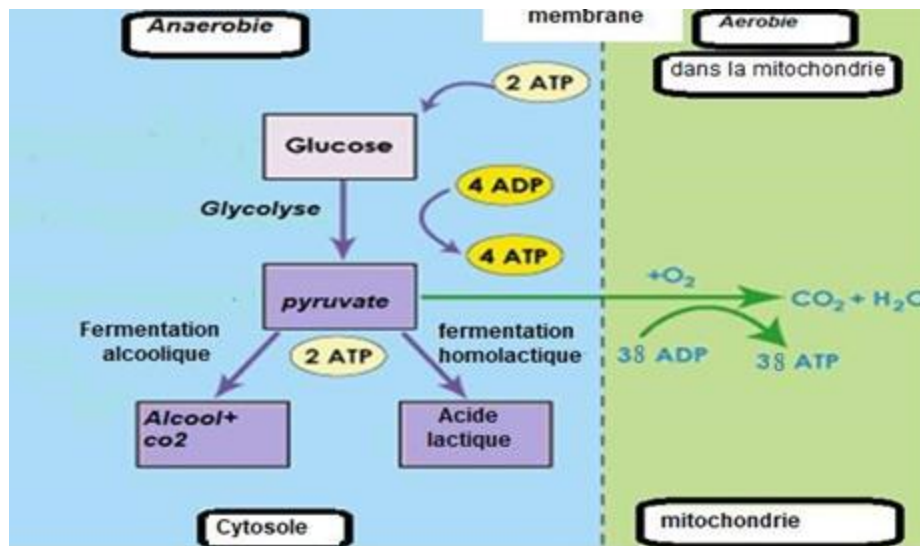


Le bilan de la fermentation cellulaire ici est uniquement de 2 molécules d'ATP.

L'alcool formé renferme encore beaucoup d'énergie. Il n'y a donc qu'une partie de l'énergie biochimique potentiellement présente dans le glucose qui a été libérée. Ainsi, on note un rapport d'ATP d'environ 19 fois moins que pour la respiration (Clément ,2017)

La glycolyse fait intervenir 30 à 65 % des protéines cellulaires, que constituent les enzymes. Le glucose est un sucre à 6 atomes de carbone pénètre dans la cellule où il subit des phosphorylations consommatrices d'énergie avant d'être scindé en 2 molécules et à 3 atomes de carbone.

Ces dernières entreront chacune dans une série de réactions aboutissant au pyruvate, qui en anaérobie est transformé en acétaldéhyde puis en éthanol et sera ensuite excrété par la cellule (Clément ,2017)



**Figure 14** :schéma de la glycolyse

#### **I.4.1.4 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. Ce dernier est composé principalement d'eau et des éléments suivants : carbone, hydrogène, oxygène, azote ; le milieu doit donc fournir ces éléments pour permettre la croissance.

Les principaux besoins des levures sont les suivants :

##### **- Une source de carbone**

Le carbone représente environ 50% du poids sec de la levure.

Les glucides simples (monosaccharides, disaccharides et tri saccharides) sont fermentescibles par les levures(**Aboloissikalakodioet al., 2013**).

##### **- De l'oxygène (ou des lipides en anaérobie)**

Nécessaire à la synthèse de stérols, En anaérobie stricte, le milieu doit être complété avec des stérols et des acides gras insaturés, qui entrent dans la composition de la membrane et ne peuvent être synthétisés par la levure qu'en présence d'une source d'atome d'oxygène (**Celton, 2011**).

##### **- 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, mais ce n'est pas suffisant, c'est pourquoi Il doit être apporté par le milieu de culture sous la forme de sels d'ammonium ou d'urée (**Aboloissikalakodio, 2013**).

. L'ajout d'une source d'azote doit se faire à un dosage optimal, car, en cas de carence, il peut y avoir une multiplication insuffisante des levures pour achever la FA, une production de protéines membranaires insuffisante pour une intégration correcte des sucres dans la levure (**Celton, 2011**).

, et en cas d'excès, il peut y avoir plus de carbamate d'éthyle (cancérogène pour l'Homme), production d'acidité volatile (**Bottonetal ., 1985**).

## - Des vitamines

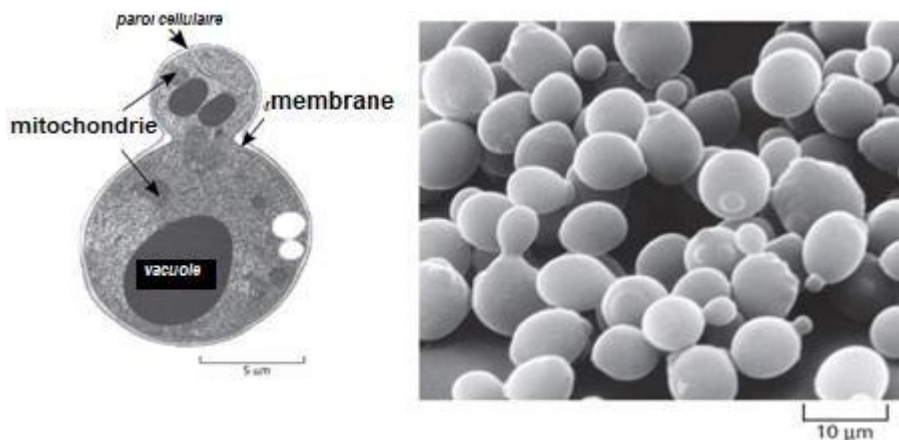
Ce sont des régulateurs et des cofacteurs importants des voies métaboliques. Elles agissent généralement comme coenzymes ou précurseurs d'enzymes.

*Saccharomyces cerevisiae* est auxotrophe pour les vitamines suivantes qui seront ajoutées au milieu de culture : acide pantothénique, acide nicotinique, pyridoxine, myo-inositol, thiamine et, Des oligo-éléments ions inorganiques) Les oligo-éléments sont nécessaires à une croissance et une fermentation optimale. Il est possible de distinguer les macroéléments :  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$  dont la concentration nécessaire varie entre 0,1 et 1 mM et les micro éléments :  $Co^{2+}$ ,  $B^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $I^-$ ,  $Mo^{2+}$ ,  $Ni^+$  pour lesquels une concentration de 0,1 à 100  $\mu M$  est suffisante (Aguilera et al., 2006).

### I.4.2 *Saccharomyces cerevisiae*

La levure *Saccharomyces cerevisiae* occupe une place privilégiée dans les activités industrielles comme agent de fermentation, et pour l'élaboration de produits dérivés. De nos jours, cette levure est également largement utilisée comme usine cellulaire pour la production de molécules d'intérêt industriel.

Elle joue également un rôle clé dans l'industrie chimique, pour la synthèse de produits de commodité comme l'acide lactique, pour la production des plastiques et dans le domaine des énergies renouvelables et des biocarburants (bioéthanol) (Celton, 2011).



**Figure 15** : La levure *Saccharomyces cerevisiae* : vue sous microscope électronique. (Prescot et al., 2010)

#### **I.4.2.1 Classification de la souche *Saccharomyces cerevisiae***

Selon la classification mondiale des microorganismes la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae* appartient aux classes suivantes (**Prescot et al.,2010**).

- Règne: champignons.
- Embranchement: fungi.
- Sous embranchement: Eumycètes.
- Classe: Ascomycètes.
- Sous Classe: Héli-ascomycètes.
- Espèce: *Saccharomyces cerevisiae*.
- Ordre: Endomycétales.
- Famille: saccharomycetaceae.
- Sous famille: saccharomycetoideae.
- Genre: Saccharomyces.

#### **I.4.2.2 Influence des paramètres environnementaux sur le métabolisme de la *Saccharomyces cerevisiae***

Plusieurs paramètres influent le métabolisme de la levure *saccharomyces cerevisiae*

- **Influence du pH (Ouédraogo et al ., 2012).**

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

- **Influence de la température (Ouédraogo et al ., 2012).**

La température convenable pour la levure *Saccharomyces cerevisiae* se situe entre 25°C et 35°C. Il s'agit d'organismes mésophiles. L'augmentation de la température accroît la vitesse de la production de certains métabolites comme l'éthanol

Mais, elle augmente la sensibilité et l'effet néfaste des stress tels que les chocs osmotiques qui Provoquent une diminution de la viabilité et de l'activité cellulaire

- **Influence de l'éthanol**

L'éthanol représente la principale cause de stress et devient toxique à des concentrations allant de 8 à 18% (m/v) pendant la culture et ceci selon l'état physiologique de l'organisme. Une fois la concentration de l'éthanol augmente dans le milieu de culture, on assiste à une diminution

de la vitesse de la croissance, de la viabilité cellulaire, de l'activité métabolique et de la capacité de production de la levure (**Aguileraet *al.*, 2006**)



CHAPITRE II

MATÉRIELS ET

MÉTHODES

## **II.1 Lieu de stage et objectif**

Notre travail a été réalisée au niveau du l'aboratoire de biologie et de chimie d'université M'hamedBougra de Boumerdes.

Les objectifs de ce travail sont résumés dans les points suivants :

1. La production de bioéthanol à partir de déchet industriel : la mélasse.
2. Déduire la concentration optimale de la levure qui donne le maximum de rendement d'éthanol.
3. Détermination de l'effet des additifs (urée et NPK) sur le rendement de la fermentation.
4. Détermination de la possibilité de remplacer l'urée et NPK par de l'eau du robinet comme solution pour réduire le coût.

## **II.2 Matériels et réactifs utilisés**

### **a) Matériel analytique**

- Agitateur magnétique.
- Etuve.
- Refractomètre.
- PH-mètre.
- Centrifugeuse.
- Alcoomètre.
- TDS.
- Installation de la distillation.
- Turbidimètre.
- Thermomètre.
- Balance.
- Microscope optique.
- Cellule de toma.

### **b) Verreries et petit matériel**

- Tube à essai.
- Eprovette.
- Entonnoir.

- Fioles.
- Seringues stériles.
- Pissette.
- Bécher.
- Pipette pasteur.
- Lame et lamelle.

### c) Réactifs de qualité

- $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M
- NaOH 1M
- HCl 1M
- Charbon actif
- Urée
- NPK

### d) Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé est la levure de souche *saccharomyces cerevisiae*

Elle est conservée dans un endroit frais et sec.



**Figure 16:** La levure *saccharomyces cerevisiae*  
(Photooriginale)

### e) Matière végétale

La mélasse est un des résidus de sucre après les traitements de la canne à sucre de l'usine du groupe cevital de Bejaïa.

## II.3 Analyses physico-chimiques de la mélasse

### a) Taux de brix

• Soit avec la solution pure de mélasse

1. Verser une goutte de la solution à l'intérieur du réfractomètre
2. Lecture de la valeur obtenue

• Soit avec dilution de 10 fois de la mélasse avec l'eau distillée

3. Verser une goutte de la solution à l'intérieur du réfractomètre
4. Lecture de la valeur obtenue

La mesure de Brix se fait par la relation suivante :

$$\text{Taux de brix \%} = \text{lecture} \times \text{facteur de dilution}$$

### b) pH

A l'aide d'un pH-mètre

### c) Matière sèche

Nous avons séché une quantité de la mélasse dans l'étuve pendant 24 heures à température 105°C. La matière sèche est déduite par la relation suivante :

Matière sèche = masse initiale de la matière avant séchage - masse de la matière après séchage

## II.4 Procédés globaux de la production d'éthanol

La production industrielle de l'éthanol à partir de la mélasse se fait par des procédés et des traitements standards, les étapes de fabrication de l'éthanol sont résumées dans la figure suivante :

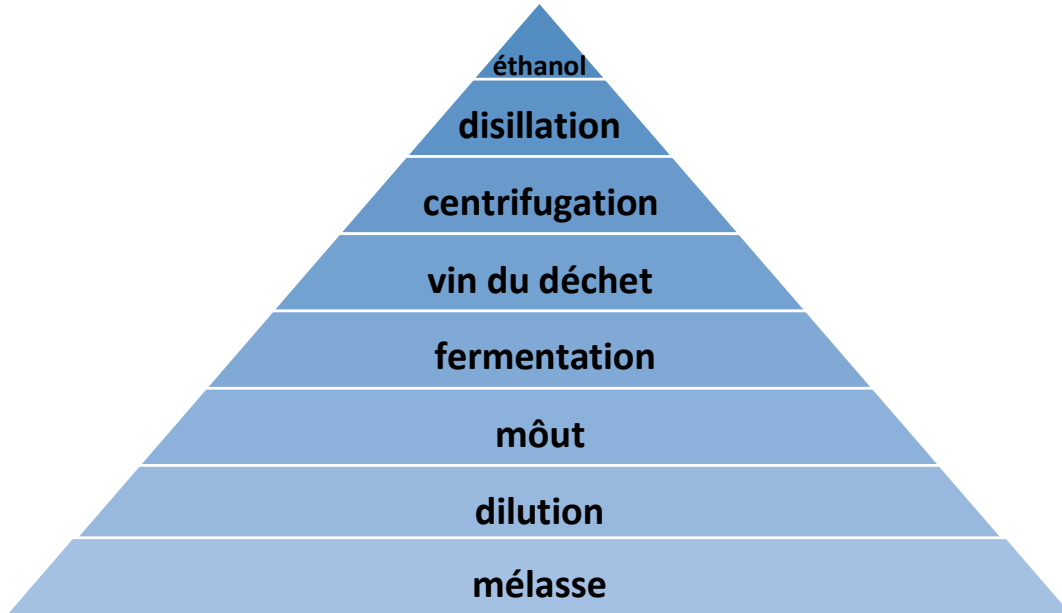


Figure 17 :Pyramide présentant les différentes étapes de production de l'éthanol(original)

## II.5 Les étapes de synthèse de bioéthanol

### II.5.1 Préparation des bioréacteurs

Pour l'étape de fermentation, nous avons adopté des bouteilles de 2,5l comme bioréacteur. La figure 18 montre ces bioréacteurs dans l'étuve. Une stérilisation de l'étuve et des bouteilles était nécessaire pour éviter tous microorganismes nuisibles.



Figure 18 : Les bioréacteurs utilisés dans l'étuve (photo originale)

## II.5.2 Traitement des déchets

La mélasse d'origine est un liquide très visqueux, d'où la nécessité de la diluer avec de l'eau distillée avec une dilution de 20 %. Dans notre cas nous avons pris 300 g de mélasse dans un volume total de 1500 ml.

## II.5.3 Traitement de l'eau potable (Jeroen ,2016).

L'élimination de l'eau de javel de l'eau du robinet est réalisée par un traitement de cette eau au charbon actif. L'activation du charbon actif utilisé est réalisée au laboratoire par l'utilisation d'une solution de HCl 0.1N



**Figure19:** La dé-javellisation de l'eau du robinet par le charbon actif (photo originale )

## II.6 Préparation des milieux réactionnels

### II.6.1 Première expérience

Dans cette première expérience nous avons fait varier la quantité de levure comme paramètre de comparaison. Les trois concentrations de levure choisies sont 1.2, 2 et 2.8(g/l). Le volume de la solution de fermentation est fixé à 1,5 L de moût. Le tableau V regroupe les conditions opératoires des trois solutions.

**Tableau V** : Différentes conditions des milieux fermentaires (première expérience)

	Milieu 1	Milieu2	Milieu3
Levure (g/l)	1.2	2	2.8
Mélasses (%)	20 %		
pH	4.8		
Température (°C)	32°C		
Eau de dilution	75% eau distillée + 25 % eau du robinet déjavelisé riche en sel minéraux		
Volume total	1,5 L		

### II.6.1.1 Culture directe à partir de la levure lyophilisée

Une quantité de levure est mise progressivement dans des bouteilles de 2,5 L contenant 1,5 L de milieu de fermentation. Le Taux de sels minéraux dissous dans l'eau potable utilisée est égale à 424  $\mu\text{Set}$  (mesuré avec un TDS ) l'ajustement du pH est réalisé avec des solutions de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  et  $\text{NaOH}$ (Oucif , 2017).



**Figure 20** : Ajustement du pH par des solutions et mesure par pH-mètre (photo originale)

### II.6.1.2 Incubation dans l'étuve

Une incubation à température fixe de 32°C sans agitation pendant 48 à 72 h est assurée dans une étuve. La fin de cette étape de fermentation est indiquée par la stabilisation du taux de brix.

On remplit jusqu'à 2/3 de volume totaux des bioréacteurs pour laisser un peu l'espace pour le dégagement du CO<sub>2</sub> lors de la fermentation.

Au cours de la fermentation et à l'aide d'une seringue stérile on prélève 5ml de chaque solution chaque 2 heures pour suivre mesurer le pH et le taux de brix de chaque milieu.

### II.6.1.3 La centrifugation

Après avoir atteint la stabilité du taux de brix et qui annonce la fin de cette opération de fermentation, on ouvre les bioréacteurs et on transvase la solution dans des flacons de 45ml spéciaux pour la centrifugation. La vitesse de centrifugation est fixée 2500 rpm pendant 10min.



**Figure21:** Tube spécial utilisé dans la centrifugeuse (photo originale )

### II.6.1.4 La distillation

La distillation est une méthode de séparation basée sur la volatilité des molécules d'un mélange. La séparation est physique par vaporisation. Le moins volatile s'évapore en premier et se sépare du mélange.





**Figure 22:** Montage de distillation de laboratoire utilisé (photo originale)

Dans cette étape du travail, un contrôle de la température est nécessaire par un thermomètre.

L'ébullition de l'éthanol est observée aux environs de 78°C. Le ballon de distillation est rempli à 2/3 de son volume total pour éviter son éclatement. L'arrêt de cette opération est effectué quand le volume initial du ballon est réduit de moitié. La densité de l'éthanol est mesurée par un alcoomètre. Le milieu qui nous donne le meilleur taux d'alcool va servir comme base pour le milieu réactionnel de la deuxième expérience **Boukhatem *etal.*(2019)**

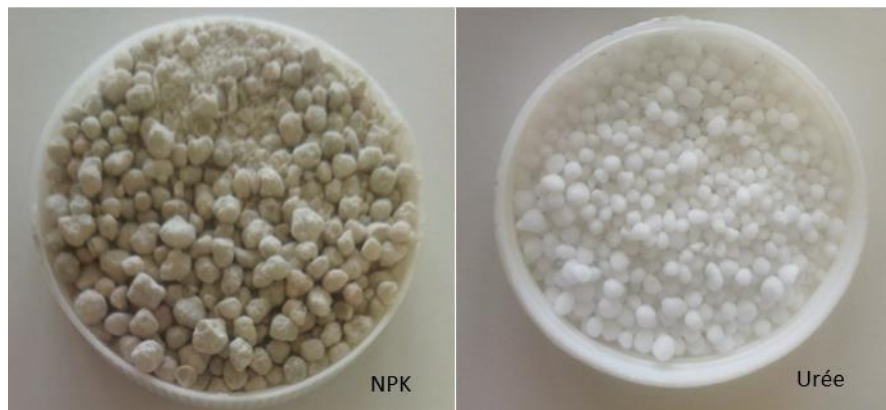
### **II.6.2 Deuxième expérience**

Dans cette deuxième expérience nous avons fixé la concentration de la levure à 2 g/l. Ce choix repose sur les meilleurs résultats obtenus avec cette concentration. L'ajout d'un additif nutritionnel ou fertilisant dans le milieu de fermentation a été examiné dans cette deuxième expérience.

**Tableau VI:** Différentes conditions des milieux fermentaires (expérience 2)

	Milieu 1 (NPK)	Milieu 2 (Urée)
Levure (g/l)	2	2
Additif nutritionnel (%)	0.25	0.25
Mélasses (%)	20	
pH	4,8	
Température	32°C	
Eau	eaudistillée pure	
Volume total	15 L	

Dans cette deuxième expérience, nous avons réalisé les mêmes étapes d'incubation, de centrifugation et de distillation sauf qu'ici nous avons poursuivi la distillation où nous avons réalisés 4 distillations successives afin d'augmenter le taux d'alcool.



**Figure 23 :** Additifs nutritionnels (ou fertilisants) utilisées. (Photooriginale)

## II.7 Comptage cellulaire

Le comptage ou numération cellulaire est la détermination du nombre de cellules contenues dans un volume précis d'un milieu liquide. Il permet l'évaluation de la prolifération des microorganismes. On exprime le résultat d'un comptage en concentration cellulaire. On utilise pour ce comptage des cellules appelées cellules de Malassez et de Thoma qui sont des lames de verre présentant un quadrillage permettant le comptage de cellules vivantes en suspension dans une solution à forte densité cellulaire. **Coulibaly, W. H. (2016)**

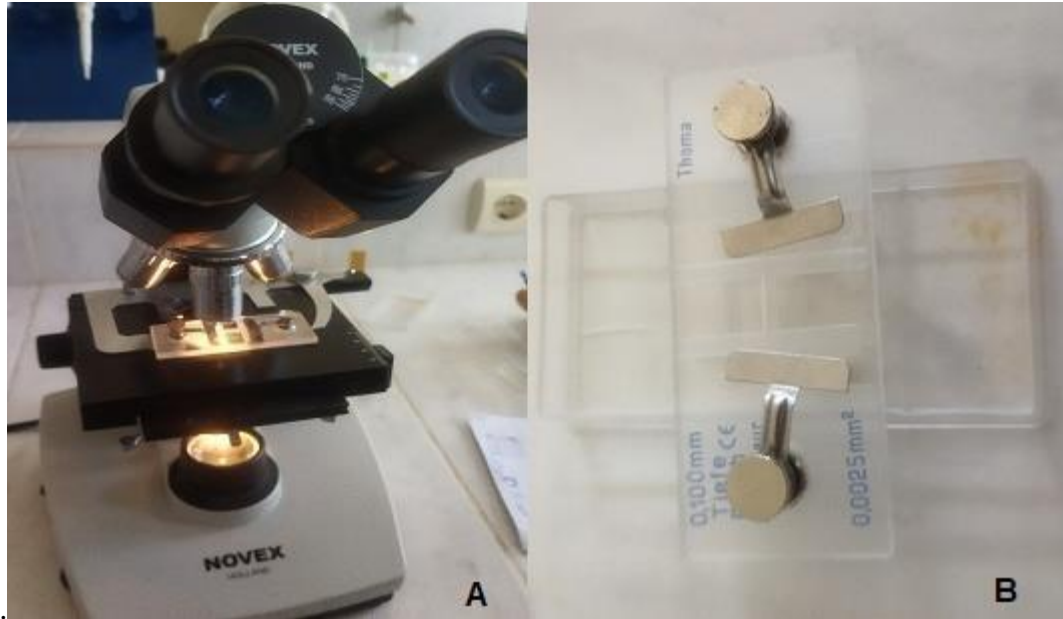
Cette opération est faite sur le deuxième échantillon de la première expérience (2 g/l de levure) et les deux échantillons de la deuxième expérience.

- **Manipulations préalables**

- Diluer la suspension cellulaire à analyser dans un dilueur adapté (sérum physiologique etc...). Attention cependant à ne pas oublier de multiplier le résultat final du comptage par le facteur de dilution choisi. La dilution idéale permet d'obtenir 10 cellules par rectangles.
- Poser la cellule sur une surface plane.
- Placer la lamelle de la cellule sur la lame de verre sur la zone contenant le quadrillage, la coller en humidifiant les 2 bords de celle-ci, ou la maintenir en place. Remettre en suspension les cellules à compter.
- Grâce à une pipette Pasteur ou une micropipette, déposer une goutte entre la lamelle et la cellule. La capillarité permettra l'entrée du liquide dans l'espace entre la cellule et la lamelle. Remplir l'espace entre les rigoles.
- Attendre que les cellules sédimentent pendant 5 minutes avant de réaliser le comptage.

- **Comptage cellulaire**

- Observation au microscope optique sous l'objectif 40 et comptage des cellules présentes dans les rectangles quadrillés verticalement et horizontalement. Chaque rectangle correspond à un volume de  $0,01 \text{ mm}^3$ .



**Figure 24:** A : Microscope optique      B : cellule de Thoma (photo originale )

- **Calcul du nombre de cellules par ml ou concentration cellulaire Schved, J. F *etal.*(1999)**

$$N \times d = n / V$$

Nb cellules/ ml = Nb moyen de cellules viables X facteur de dilution / Volume des  
chambres( $10^4$ ml)

**N** : nombre d'éléments par ml ; **d** : coefficient de dilution ; **n** : nombre d'éléments comptés ;  
**V** : volume de comptage correspondant au nombre de rectangles comptés.

CHAPITRE III

RÉSULTATS ET

DISCUSSIONS

### III.1 Introduction

L'objectif principal de ce travail est la production de bioéthanol à partir de matière végétale mélasses par la méthode de fermentation, basée sur le phénomène de métabolisme des sucres en présence des levures.

Sur la base de ce qui a été présenté précédemment dans ce domaine, nous avons mené deux expériences, la première pour choisir la meilleure concentration de levure qui donne le plus de rendement de fermentation et la seconde d'examiner l'idée de remplacer l'urée par de l'eau du robinet riche en sels minéraux afin de pouvoir réduire le coût de la production du bioéthanol

### III.2 Analyses physico-chimiques de la mélasse

L'analyse physico-chimique de la mélasse issue du groupe Cevital de Bejaïa a donné les caractéristiques regroupées sur le tableau suivant : **Boucherba *et al.* (2021)**

**Tableau VII :**Caractéristiques physico-chimiques de la mélasse du groupe Cevital

Caractéristique	Valeur
Taux de brix	73 %
pH	4.4
Matière sèche	65 %

Après avoir mesuré le Brix et l'acidité, nous avons obtenu un résultat de 73 % et 4.4 dans l'ordre et concernant la quantité de la matière sèche dans notre mélasse est 65 %

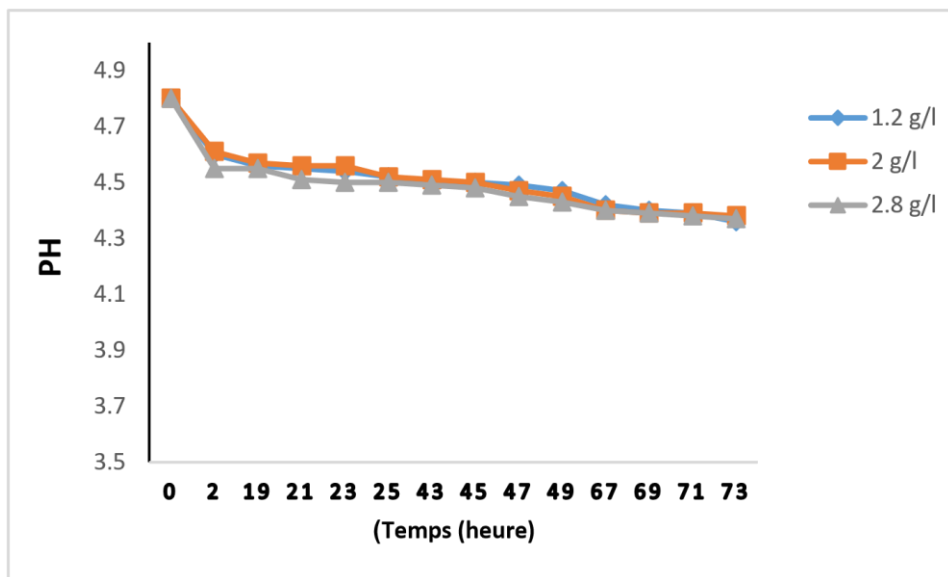
### III.3 Evolution du pH

La figure 25 et la figure 26 représentent l'évolution du pH du milieu de fermentation pendant les trois jours et pour les deux expériences réalisées.

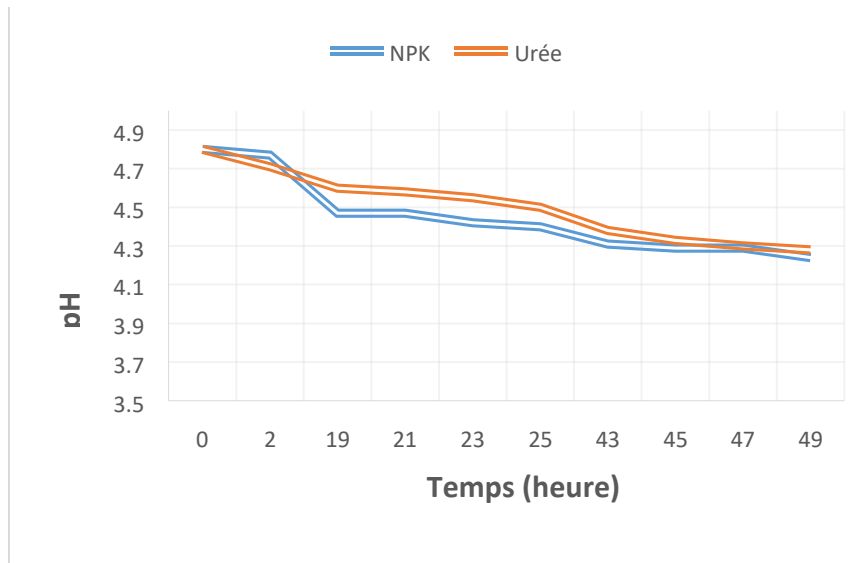
Selon la littérature (**Boulal *et al.*, 2016**), les limites de pH rapportées pour maintenir la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* sont comprises entre 2,4 et 8,6 avec un pH optimal entre 4,5 et 5. Le maintien du pH cytoplasmique est essentiel à la survie de la levure. Ainsi, compte tenu du stress éthanolique qui provoque une chute du pH cytoplasmique, cela induit au décès cellulaire, cette diminution du pH intracellulaire peut être le résultat soit d'un influx de protons

soit d'une accumulation d'intermédiaires réactionnels (acide acétique, acide lactique, glycérol, etc.).

Une petite variation de pH a été enregistrée dans les deux expériences comparées au pH initial fixé à 4,8 (valeur optimale pour le développement de *S. cerevisiae*). Cette légère diminution est due probablement à la formation des acides gras comme l'acide lactique. Ceci montre que le pH n'est pas trop influencé par la concentration de la levure ni par les additifs nutritionnels. **Dahouenon-Ahoussi *etal.*(2012)**



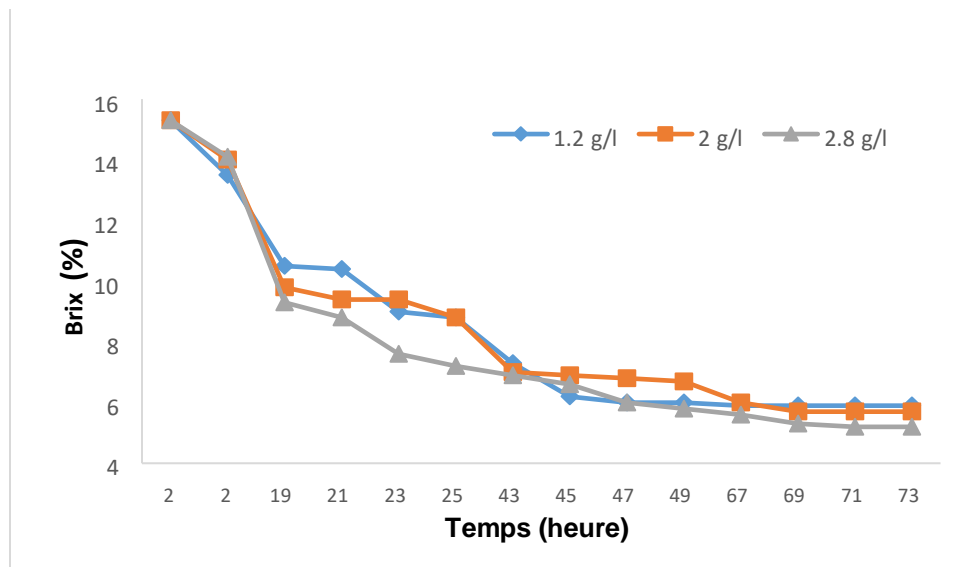
**Figure 25:** Evolution du pH des trois milieux de la première Expérience en fonction du temps avec différentes concentrations de levure



**Figure 26 :** Evolution du pH des deux milieux de la deuxième expérience en fonction du temps en présence de 0.25 % d'additif nutritionnel avec 2g/l de levure.

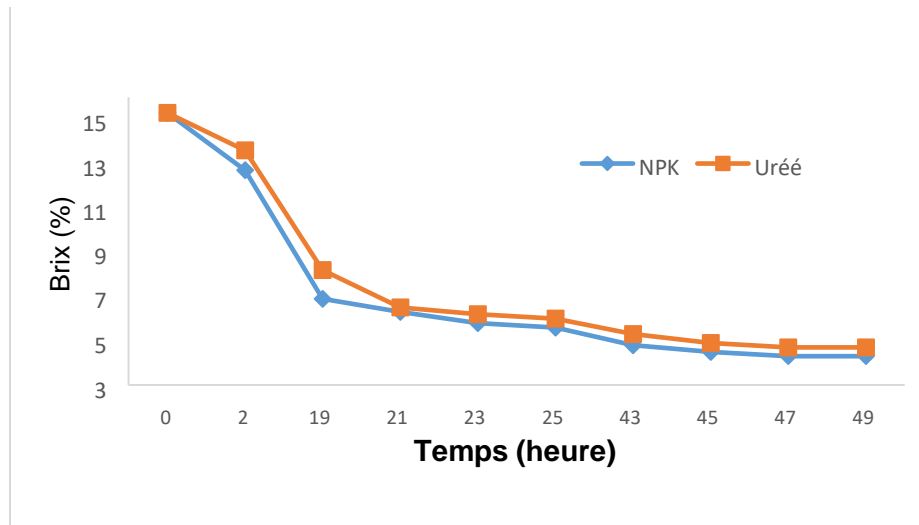
### III.4 Evolution du taux de brix

Les figures 27 et 28 examinent l'évolution du taux de brix du milieu de fermentation pendant les trois jours et pour les deux expériences réalisées.



**Figure 27:** Evolution du taux de brix des trois milieux de la première expérience en fonction du temps avec différentes concentrations de levure.





**Figure 28 :** Evolution du taux de brix des deux milieux de la deuxième expérience en fonction du temps en présence de 0.25% d'additif nutritionnel avec 2g/l de levure

En examinant la figure 28 obtenue pour la première expérience, on peut voir clairement qu'il y a une forte diminution du taux de brix de 15,3 à 6, ce qui justifie l'activité de la levure dans le milieu de fermentation. Cette diminution du taux de brix est inversement proportionnelle avec la concentration de la levure mais de manière légère *Mossi et al. (2018)*

Pour la deuxième expérience, l'examen de la figure 29 montre que la présence d'additif nutritionnel donne une diminution du taux de brix plus que celle obtenue sans nutritif. La présence d'azote dans les deux additifs est nécessaire au métabolisme cellulaire de la levure, il est utilisé dans la synthèse des acide aminés, des acides nucléiques ainsi que pour certaines vitamines, donc sa présence est très importante pour favoriser la multiplication cellulaire. Par ailleurs, une nette différence de diminution est observée dans le cas du nutritif NPK par rapport à celle de l'urée.

Ce résultat peut être justifié par la présence d'autres éléments autre que l'azote dans le NPK et qui sont aussi nécessaires au métabolisme cellulaire de la levure comme le phosphore etpotassium, ceci est en accord avec les travaux de *Aldiguier et al. (2004)*

### III.5 Rendement de la distillation

#### a) La première expérience

Dans cette première expérience nous avons procédé à une première distillation pour chacun des trois échantillons de moût de mélasse et avec le même protocole de travail.

La masse initiale de la mélasse est fixée à 200 g/l avec un volume total de 1,5 litre de jus de mélasse. Après une fermentation de trois jours à l'étuve et suivie d'une centrifugation, on récupère un volume total de 1280 ml de la solution fermentée. On procède à une première distillation, et on mesure le degré d'alcool par un alcoomètre. Comme l'échantillon de concentration en levure 2g/l a donné un meilleur rendement lors de la première distillation, nous avons procédé à d'autres distillations pour cet échantillon pour augmenter le degré d'alcool. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau VIII suivant :

**Tableau VIII :** Degré et volumes d'éthanol obtenus après chaque distillation

		Concentration de la levure			Volume(ml)
		1,2 g/l	2 g/l	2,8 g/l	
<b>1<sup>ière</sup> distillation</b>	<b>Degréd'alcool</b>	18 °	22 °	20 °	630
<b>2<sup>ième</sup> distillation</b>			38 °		300
<b>3<sup>ième</sup> distillation</b>			70 °		130
<b>4<sup>ième</sup> distillation</b>			82 °		65

D'après les résultats observés, l'excès de levure consomme la matière fermentable , ce qui réduit le rendement. C'est le cas de 2,8 g/l de levure (**Oucif , 2017**)

### •Calcul du rendement de la distillation

Ce rendement est calculé pour le volume d'alcool obtenu après la quatrième distillation de par rapport à son volume initial de 1280 ml.

$$R \% = \frac{65}{1280} \times 100 = 5,08 \%$$

### b) La deuxième expérience

Dans cette deuxième expérience, nous avons travaillé dans les mêmes conditions que le l'échantillon 2 (levure 2 g/l) de la première expérience mais avec l'ajout de l'additif nutritionnel. Le volume récupéré après la centrifugation est égal à 1280 ml. Après nous avons procédé à plusieurs distillations pour augmenter le rendement de l'alcool. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IX suivant :

**Tableau IX :** Degré d'alcool et volume d'éthanol obtenus lors de la 2<sup>ème</sup> expérience durant les quatre distillations

	Degré d'alcool		Volume (ml)
	NPK	Urée	
1 <sup>ère</sup> distillation	25 °	20 °	630
2 <sup>ème</sup> distillation	40 °	35 °	300
3 <sup>ème</sup> distillation	68 °	62 °	140
4 <sup>ème</sup> distillation	84 °	81 °	70

### •Calcul du rendement de la distillation

Ce rendement est calculé pour le volume d'alcool obtenu après la quatrième distillation par rapport à son volume initial de 1280 ml.

$$R \% = \frac{70}{1280} \times 100 = 5,46 \%$$

Dans la première expérience, nous avons obtenu un bioéthanol à 82° et qui semble être un degré élevé malgré l'absence des nutriments. Pour l'échantillon avec le NPK le degré alcoolique est légèrement élevé par rapport à celui de l'urée. Ceci semble logique du fait que la composition en éléments du NPK permet une meilleure activité microbienne pendant la fermentation alcoolique par rapport à l'urée qui ne s'exprime que seulement par une source d'azote. Nos résultats ressemblent en accord avec ceux obtenus par les travaux de (Abubaker et al., 2012) et de (Jahding, 2020), qui ont utilisé les mêmes concentrations des additifs nutritionnels NPK = 0,25%

### III.6 Résultat du comptage cellulaire

Les levures présentes en solution ont été observées dans la cellule de Thoma dans un microscope optique sous l'objectif 40. Le comptage cellulaire a été effectué dans chaque rectangle quadrillé verticalement et horizontalement et qui correspond à un volume de 0,01 mm<sup>3</sup>. Pour chaque expérience nous avons procédé au comptage initial avant la fermentation et au comptage final après la fermentation. Les résultats obtenus pour les deux expériences sont regroupés dans les tableaux X et XI suivants :

**Tableau X:** Comptage cellulaire sous microscope à l'aide de la cellule de Thoma de la première expérience ( sans additif nutritionnel) en présence de 2g/l

Nombre de cellules/rectangle					Moyenne	Cellules / ml	Pourcentage %
Ti	20	20	25	16	19	800.000	81.25%
Tf	36.25	30	41	39	35	1450.000	

i : Initial (avant fermentation )

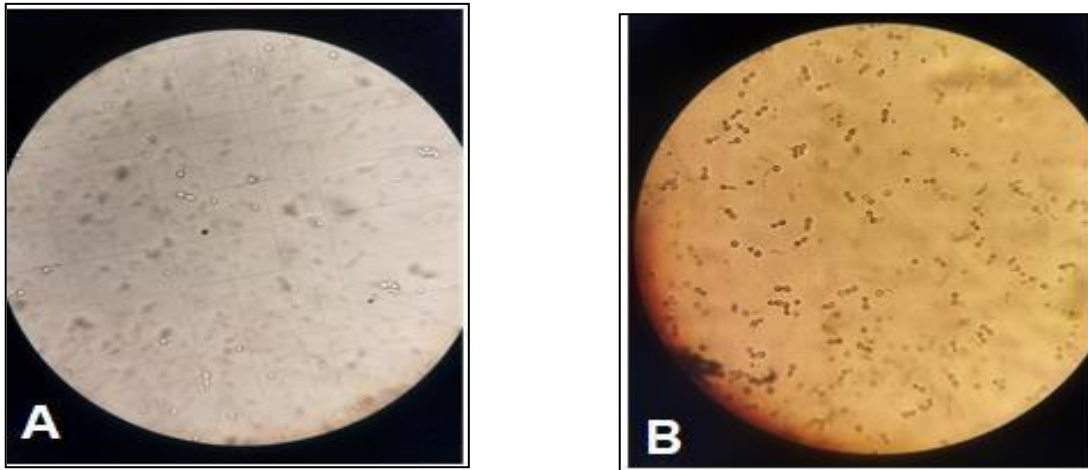
f : Final ( après fermentation)

**Tableau XI:** Comptage cellulaire sous objectif 40 du microscope optique à l'aide de la cellule de Thoma de la deuxième expérience (en présence d'additif nutritionnel)

		Nombre de cellules/rectangle				Moyenne	Cellules / ml	Pourcentage %
<b>NPK</b>	Ti	22	14	20	16	18	720.000	154,16 %
	Tf	49	43	50	41	45.75	1830.000	
<b>Urée</b>	Ti	16	13	11	10	12.5	500.000	76%
	Tf	23	20	30	15	22	880.000	

i : Initial (avant fermentation )

f : Final ( après fermentation)



**Figure 29** : Photo sous microscope optique de la solution sous objectif 40 de mout fermenté (photo originale)

A : Avant fermentation

B : Après fermentation

La reproduction par bourgeonnement des levures est associée au milieu de culture, qu'il doit être ambiant. Ce dernier a été réalisé par l'ajout des additifs nutritionnels ou bien par la présence d'eau potable. D'après les résultats des trois échantillons obtenus, on note une augmentation du rendement du nombre de cellules fermentatives et qui s'observe également sur les figures microscopiques. On observe clairement que le nombre de cellules dans le milieu auquel le NPK a été ajouté est plus important.

Bien que la majorité des études ultérieures et qui ont été basées sur l'ajout d'urée comme agent nutritionnel, ont montré une nette amélioration du rendement, malheureusement nos résultats ont montré le contraire lors de l'ajout de ce nutritif. Néanmoins, nous avons conclu cette amélioration avec l'agent nutritionnel NPK.

Comme le rendement de la première expérience dans laquelle on a utilisé l'eau potable déjavelisée est presque le même que l'échantillon de l'NPK (82° et 84°), alors que leur activité vitale de la levure est complètement différente. Nous avons constaté que la présence du nutritif NPK a contribué à la croissance de la levure sans pour autant augmenter la production de l'éthanol. Peut être ceci est dû à un seuil d'équilibre que l'éthanol ne peut dépasser.

CONCLUSION

ET

PRESPECTIVE

Le bioéthanol joue un rôle très important dans le domaine d'énergie car c'est une source renouvelable, propre, non toxique et non polluante.

L'objectif de notre projet est le recyclage des déchets végétaux pour la production d'éthanol qui nous offre la possibilité de réduire ces déchets, de diminuer la pollution et de protéger l'environnement. Ce travail est exprimé par deux expériences, la première dans le but de déterminer la meilleure concentration de levure avec utilisation d'eau potable javellisée et sans aucun additif nutritionnel et la deuxième la levure dans l'eau distillée en présence d'urée et du NPK comme additif nutritionnel.

Nous avons choisi un déchet très riche en sucre qui est la mélasse issue du groupe cevital de Bejaia, et via la voie de la fermentation alcoolique grâce à la levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*), dans des conditions bien déterminées, nous avons obtenu du bioéthanol à un degré d'alcool élevé. Les conditions de fermentation optimale dans notre travail étaient les suivantes : température à 32°C, pH à 4,8, concentration de la levure à 2g /l et concentration de la mélasse à 200 g/l. Pour l'eau utilisée elle est composée d'eau potable javellisée-eau distillée (1:3) lors de la première expérience. Par contre dans la deuxième expérience, nous avons utilisé de l'eau distillée en présence de 0.25 % d'additif nutritionnel.

Au final, nous avons conclu que l'ajout du NPK donne un meilleur rendement de distillation avec un degré d'éthanol de 84°. Aussi, nous avons constaté que qu'on peut remplacer l'additif nutritionnel avec l'eau potable javellisée avec une légère baisse dans le rendement de production d'éthanol. Ceci permettra de réduire le coût de la production du bioéthanol ainsi que d'économiser nos additifs nutritionnels pour d'autres usages.

## **Perspectives**

Le bioéthanol joue un rôle très important dans le domaine d'énergie car c'est une source renouvelable, propre, non toxique et non polluante. Nous souhaitons une suite de notre travail

par d'autres chercheurs et stagiaires avec d'autres variables pour atteindre un meilleur rendement et en se basant sur les résultats que nous avons trouvés. Le bioéthanol que nous avons fabriqué peut-être redéfini au domaine des biocarburants avec une optimisation du rendement à 100 %. Aussi, il pourra servir comme alcool chirurgical à condition de réduire l'arrière odeur de la levure qui pose problème pour celui-ci.

Aussi la récupération de culot, qui contient les levures pour le réutiliser pour une deuxième fermentation ou bien pour l'utiliser dans un autre domaine tel que la panification



RÉFÉRENCES  
BIBLIO-  
GRAPHIQUES

- **Aboloissikalakodio B O et Bakayoko M. (2013).** Optimization of sugarmolasses fermentation using *saccharomyces cerevisae* for bioethanol production.
- **Abubaker, H. O., Sulieman, A. M. E., &Elamin, H. B. (2012).** Utilization of *Schizosaccharomyces pombe* for production of ethanol from cane molasses. J MicrobiolRes, 2, 36-40. Dahouenon abilisation de la bière produite à partir de matières amylacées locales (Sorghum bicolor et Musa acuminata) par adjonction de l'huile essentielle de Cymbopogon citratus. *Journal of Applied Biosciences*
- **Acourene, S. (2013).** Valorisation biotechnologique des dattes de faible valeur marchande par la production de la levure boulangère, éthanol, acide citrique et  $\alpha$ -amylase (Doctoral dissertation).
- **Aguilera, F., Peinado, R. A., Millan, C., Ortega, J. M., & Mauricio, J. C. (2006).** Relationship between ethanol tolerance, H<sup>+</sup>-ATPase activity and the lipid composition of the plasma membrane in different wine yeast strains. International journal of food microbiology, 110(1), 34-42.
- **Akrimi, N., Laroui, Y., &Abekhti, A. (2020).** Évaluation des Techniques de Préparation des Sous-Produits des Palmiers Dattiers et Détermination de leur Rendement de Production de bioéthanol (Doctoral dissertation, universite Ahmed Draia-ADRAR).
- **Aldiguiet, A. S., Alfenore, S., Cameleyre, X., Goma, G., Uribelarrea, J. L., Guillouet, S. E., & Molina-Jouve, C. (2004).** Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behaviour in ethanol bio-fuel production. Bioprocess and biosystems engineering, 26(4), 217-222.
- **Alio, M. A. (2020).** Production de bioéthanol à partir d'une biomasse lignocellulosique multi-ressources locale par prétraitement Organosolv et hydrolyse enzymatique (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne [2017-2020])
- **Allouache, A., Aziza, M. A., &Zaid, T. A. (2013).** Analyse de cycle de vie du bioéthanol. Journal of Renewable Energies, 16(2), 357-364.

- **Babandjar, A., & Zaabi, B. (2021).** Optimisation de production de l'éthanol à partir des matières premières différentes (Doctoral dissertation, universityghardaia).
- **Ballerini, D. (2002).** Production d'éthanol à partir de biomasse. *ACTUALITE CHIMIQUE*, (11/12), 83-87.
- **Bessaoud, O, et al. (2019).** Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie. Diss. CIHEAM-IAMM.
- **Besson, M., & Gallezot, P. (2003).** Deactivation of metal catalysts in liquid phase organic reactions. *Catalysis Today*, 81(4), 547-559.
- **Bevill, K. (2008).** Building the 'Minnesota Model'. *Ethanol Producer Magazine*, 114-120.
- **Birch, R. M., & Walker, G. M. (2000).** Influence of magnésium ions on heat shock and éthanol stress réponses of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and microbial technology*, 26(9-10), 678-687.
- **Botton, B., Breton, A., Feve, M., Guy, P., Larpent, J. P., & Veau, P. (1985).** Moisissures nuisibles. Moisissures utiles et nuisibles-Importance industrielle.
- **BouAcherba, N. E., May, K., & Lakaour, L. (2021).** Analyse physicochimique et essai de valorisation de la melasse coproduit de l'industrie sucrière «CEVITL».
- **Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- **Boulal, A., Kihal, M., & Meknassi, A. (2016)** Etude du Pouvoir Fermentaire de Levures Isolées Naturellement à Partir des Dattes au Sud d'Algérie (Application à la Fermentation de Deux Variétés de Dattes Communes de Faible Valeur Marchande).
- **Bourgeois, C. M., Larpent, J. P., & Accolas, J. (1996).** Microbiologie alimentaire. Tome 2—Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Collection Sciences et techniques agroalimentaires, Edition Lavoisier, Technique et Documentation, France.
- **Cameron, G., Le, L., Levine, J., & Nagulapalli, N. (2012).** Process design for the production of ethylene from ethanol.

- **Celton, M. (2011).** Etude de la réponse de *Saccharomyces cerevisiae* à une perturbation NADPH par une approche de biologie des systèmes (Doctoral dissertation, Montpellier, SupAgro).
- **Chniti, S. (2015).** Optimisation de la bioproduction d'éthanol par valorisation des refus de l'industrie de conditionnement des dattes (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).
- **Christon, R., & Le Dividich, J. (1978).** Utilisation de la melasse de canne à sucre dans l'alimentation du porc: essai d'interprétation des acquisitions récentes. In *Annales de zootechnie* (Vol. 27, No. 2, pp. 267-288)
- **Clément H.(2017)** .Instrumentation modélisation et automatisation de fermentation levures à destination œnologique .thèse de doctorat .université de paris .
- **Coulibaly, W. H. (2016).** *Mise en place d'un starter lyophilisé pour la fermentation alcoolique de la bière de sorgho* (Doctoral dissertation, Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire)).
- **D,Bégi et M,Gérin .(2002)** . solvant industrielle ,chapitre 2 les grand familles des solvants organique, p13-24
- **Dahouenon-Ahoussi, E., Degnon, R. G., Adjou, E. S., & Sohounhloue, D. C. (2012).** Stabilisation de la bière produite à partir de matières amylacées locales (*Sorghum bicolor* et *Musa acuminata*) par adjonction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*. *Journal of Applied Biosciences*, 51, 3596-3607.
- **DanneilB .(2006).** Les biocarburants :état des lieux , perspectives et en jeux du développement .pais : Edition technip .
- **Didderen, I., Destain, J., & Thonart, P. (2010).** La production de bioéthanol à partir de biomasse lignocellulosique. *Forêt. Nature*, (104).
- **Didderen, Isabelle, Jacqueline Destain, and Philippe Thonart.(2008).**Le bioéthanol de seconde génération: la production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. Presses agronomiques de Gembloux.
- **Diddren I , DestainJ ,Thonart P (2008)** .Le biooéthanl de seconde génération . Belgique :pavoorisie édition
- **Dufour A .(2017)** .Le grand livre des aliments ferments .France :Edition leduc

- **Eveau J, Bouix M .(1993).** Microbiologie industrielle , les microorganismes d'intérêt industriel .Paris :Edition Tec et Doc
- **Fakruddin, M., Islam, M. A., Ahmed, M. M., & Chowdhury, N. (2013).** Process optimization of bioethanol production by stress tolerant yeasts isolated from agro-industrial waste. *International Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 2(4), 133-139.
- **Fatima, H. (2019).** Utilisation d'une ressource végétale pour la production du bioéthanol: cas de la betterave.
- **Guinet, R., & Godon, B. (1994).** La panification française (pp. 521-p). Lavoisier.
- **Hencke, S. (2000).** Utilisation alimentaire des levures (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré)
- **Jahding M.(2020).**Optimisation of bioéthanol production based on fermentation - distillation of molasses as alternative fuel .faculty of mathematics and natural science , Halu Oleo university ,southeast Sulawesi ,Indonésie.
- **Jeroen C.(2016).**Déchloration de l'eau par la technologie du charbon actif,desotocactivatedcarbon
- **Lafront O et Duval D.(2001)** .La préparation en pharmacie , dossier 1 .paris :Edition Tec et Doc
- **Le, P. T. (2013).** Oxydation en voie humide des effluents des distilleries d'alcool à partir de canne à sucre en présence de catalyseurs Ru et Pt supportés sur TiO<sub>2</sub> ou ZrO<sub>2</sub> (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).
- **Lestari, S., Mäki-Arvela, P., Beltramini, J., Lu, G. M., & Murzin, D. Y. (2009).** Transforming triglycerides and fatty acids into biofuels. *ChemSusChem: Chemistry & Sustainability Energy & Materials*, 2(12), 1109-1119.
- **Maroua G .(2022).**La production de bioéthanol par la technique de fusion des protoplastes entre deux souches fongiques
- **Marson, R. A. H. E. R. I. M. A. N. D. I. M. B. Y. (2015).** ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES LEVURES DU FRUIT DU BIBACIER OU *Eriobotrya japonica* (ROSACEAE) DE LA REGION DE VAKINANKARATRA (Doctoral dissertation, UNIVERSITE D'ANTANANARIVO).

- **Mossi, I., Kouwanou, C., Agbangnan, C., Adjou, E., Gbohaida, V., & Sohounhloue, D. (2018).** Production du bioéthanol par fermentation du moût de tiges de *Sorghum saccharatum* (L.) du Bénin.
- **MurryT , (2006) .**Différencier le bioéthanol de l'éthanol issu de pétrol ,Ethanol producermagaine.
- **Osunkoya, O. A., & Okwudinka, N. J. (2011).** Utilization of sugar refinery waste (molasses) for ethanol production using *Saccharomyces cerevisiae*. *American journal of scientific and industrial research*, 2(4), 694-706.
- **Oucif ,Kh.M.T.(2017).**Mise en valeurs des dérivés de dattes de la région d'Oued Souf pour la production de bioéthanol, thèse de doctorat, université kasdiMerbah, Ouargla
- **Ouédraogo, N., Savadogo, A., Somda, M. K., Zongo, C., & Traore, A. S. (2012).** Essai de production de protéines d'organismes unicellulaires par des souches de levures à partir de résidus de tubercules de patate douce et d'igname. BASE.
- **Prescot,Harley,Klein,Wiley,Sherwood,Woolverton.(2010).**Microbiologie.Paris:edition de boeck.
- **RAKOTOARY, N. S. (2018).** Elaboration, formulation et caractérisation d'un aliment à hautes valeurs nutritives à base du koba ravina de TalataVolonondry, farine composée améliorée et à usages multiples pour les ménages. Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo.
- **Riess, J. (2012).** Intensification de la brique «fermentation alcoolique» de substrats betteraviers (et autres substrats) pour la production d'éthanol (Doctoral dissertation, Toulouse, INPT).
- **SaihiaS ,(2014).**L'effet d'éthanol sur les paramètres hématologiques, biochimiques et les paramètres de la reproduction chez le lapin mâle *OryctolagusCuniculus*. Diss. Université Badji Mokhtar.
- **Schved, J. F., Monneret, I., Levayer, T., Lavabre-Bertrand, C., & Taib, J. (1999).** Étude des différentes méthodes de numération plaquettaire au laboratoire.: Application aux thrombopénies sévères. *Revue Francaise des Laboratoires*, 1999(312), 95-98
- **Steyer, D. (2011).** Etude génétique du métabolisme des acides gras et des terpènes aromatiques chez la levure en conditions fermentaires (Doctoral dissertation).

- **Teagasc research centre .(2002).**Agriculture and food developement authority magazine
- **Thabet, T. S. (2012).**VALORISATION DE DECHETS DE DATTES TUNISIENNES: PRODUCTION DE BIOETHANOL.
- **Tirichine, A., Abid, A. F., Dahliz, A., Hafouda, L., Merouchi, W., & Khaled, H. (2017).** Étude de l'effet de substitution du fumier par le phragmite (Phragmites communis Trin.) sur la qualité du compost à base de sous produits du palmier dattier. Algerian journal of aridenvironment, 7, 4-17
- **Tolba H . (2019).** Étude de l'effet d'une fertilisation organique en paille avec une fertilisation chimique.Cas de l'angré NPK sur la croissance et le developpement du blé dur. Mémoire de master.université de constantine.
- **Wiley,Sherwood,Woolverton .(2010).**Microbiologie.Bruxele :édition de boeck.
- **Zebre, A. C., Koffi-Nevry, R., Koussémon, M., Yacouba, K., & Kakou, C. (2011).** Effet du nombre de recyclages de la biomasse de *Saccharomyces uvarum* sur quelques paramètres de la fermentation primaire au cours de la production de la bière en Côte d'Ivoire. BASE

## Résumé

Le bioéthanol est l'une des alternatives énergétiques modernes qui vise à réduire l'utilisation permanente du pétrole et la pollution de l'air qui en résulte ,ce dernier est produit à partir d'une biomasse riche en sucre à l'aide d'une souche de levure .

Ce travail vise à produire du bioéthanol par fermentation d'un déchet organique récupéré issu de la production du sucre avec l'utilisation d'une levure commerciale qui est *Saccharomyce cerevisiae*.

Nous avons conclu que la meilleure production de bioéthanol a donné un alcool de degré 84° en utilisant une concentration de levure de 2g/l et en présence de 0,25% de NPK comme additif nutritionnel. Par contre, l'utilisation de l'urée comme additif nutritionnel n'a pas donné des résultats satisfaisants. Aussi cette étude a montré que l'on peut remplacer l'additif NPK par une simple eau minérale à savoir l'eau du robinet déjavelisée et obtenir des résultats semblables à ceux obtenus avec le NPK. Ceci va permettre de réduire considérablement le coût de la production de l'éthanol.

**Mot clé :** Bioéthanol ,Mélasse,Fermentation,Additif nutritionnel,*Saccharomyce cerevisiae*

## ملخص

الإيثانول الحيوي هو أحد بدائل الطاقة الحديثة التي تهدف إلى تقليل الاستخدام الدائم البترول وتلوث الهواء الناتج منه. يتم إنتاج الأخير من كتلة حيوية غنية بالسكر باستخدام سلالة من الخميرة يهدف هذا العمل إلى إنتاج الإيثانول الحيوي عن طريق تخمير النفايات العضوية المستعادة من إنتاج السكر باستخدام خميرة تجارية وهي *Saccharomyce cerevisiae*. استنتجنا أن أفضل إنتاج للبيوإيثانول أعطى كحولا بدرجة 84 باستخدام تركيز خميرة 2 غ/ لتر وبوجود 0,25% من سماد NPK كمضاف غذائي. و من ناحية أخرى ، فإن استخدام اليوريا كمضاف غذائي يعط نتائج مرضية مثل NPK. أظهرت هذه الدراسة أيضًا أنه يمكن استبدال مادة NPK المضافة بمياه معدنية بسيطة مثل مياه الصنبور منزوعة الكلور والحصول على نتائج مماثلة لتلك التي تم الحصول عليها باستخدام NPK مما يؤدي إلى تقليل تكلفة إنتاج الإيثانول بشكل كبير.

**الكلمة المفتاحية:** الإيثانول الحيوي ،دبس السكر،التخمير،المضافات الغذائية،*saccharomyce cerevisiae*



## **Abstract**

Bioethanol is one of the modern energy alternatives that aims to reduce the permanent use of fuel and the air pollution resulting, the latter is produced from a biomass rich in sugar using a strain of yeast

This work aims to produce bioethanol by fermentation of organic waste recovered from the production of sugar with the use of a commercial yeast which is *Saccharomyce cerevisiae*.

We concluded that the best production of bioethanol gave an alcohol of 84° degree using a yeast concentration of 2g/l and in the presence of 0.25% of NPK as a nutritional additive. On the other hand, the use of urea as a nutritional additive did not give satisfactory results. This study also showed that the NPK additive can be replaced by a simple mineral water, namely bleached tap water, and obtain results similar to those obtained with NPK. This will significantly reduce the cost of ethanol production.

**Key word:** Bioethanol ·Molasses·Fermentation·Nutritional additive·*Saccharomyce cerevisiae*