

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université M'hamed Bougara Boumerdes

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Département : Génie des procédés

Filière : Génie des procédés

Option : Génie Alimentaire

THEME

**Contribution à l'Étude du Procédé de Raffinage du Sucre Roux de
l'Unité GRD La BELLE et Valorisation des Sous produits de la
Raffinerie : Cas de la mélasse de Canne.**

Présenté par : Dahmani Yasmina et Baka Sara

Soutenu le : 08/07/2018

Jury:

Président : M^{er} A. Nouani

Professeur UMBB

Examinatrice : Mme F. Yelles

M.A.A UMBB

Promotrice : Mme N. Benmalek

M.A.A UMBB

Co-promoteur: M^{er} D. Haciane

GRD Labelle

Promotion 2018

Résumé :

Notre travail se concentre sur l'étude du raffinage du sucre roux et son importance dans le processus de fabrication et de la conformité du produit fini du sucre blanc aux normes. Il étudie également les méthodes de valorisation des sous produits « la mélasse » pour son introduction en tant que matière première utilisable dans l'industrie alimentaire. Dans ce contexte, la mélasse a été soumise à une série d'analyses afin d'identifier et d'évaluer sa composition biochimique pour les valoriser. Un pouvoir antioxydant considérable a été quantifié dans la mélasse par les méthodes de TAC , FRAP et DPPH. La teneur en polyphénol dans la mélasse est ($6 \cdot 10^{-2} \text{ mg / ml}$) déterminé par la méthode **Singleton et Rosi (1965)**. La fermentation alcoolique de la mélasse par les *Saccharomyces cerevisiae* a permis de produire ($5,48 \text{ g/l}$), l'analyse des distillats par chromatographie phase gazeuse a révélé l'éthanol avec un pourcentage 99.15% dans les distillats.

Mots clés: mélasse, valorisation, antioxydants, fermentation alcoolique.

Abstract :

Our work focuses on the study of brown sugar refining and its importance in the manufacturing process and the conformity of the finished white sugar product to the standards. He also studies the methods of valorization of by-products "molasses" for its introduction as a raw material usable in the food industry. In this context, molasses has been subjected to a series of analyzes in order to identify and evaluate its biochemical composition in order to valorize them. Considerable antioxidant potency was quantified in molasses by the TAC, FRAP and DPPH methods. The polyphenol content in molasses is ($6 * 10^{-2} \text{ mg / ml}$) determined by the Singleton and Rosi method (1965). The alcoholic fermentation of the molasses by the *Saccharomyces cerevisiae* made it possible to produce ($5,48 \text{ g / l}$), the analysis of the distillates by gas phase chromatography revealed the ethanol with a 99.15% percentage in the distillates.

Key words: molasses, recovery, antioxidants, alcoholic fermentation

ملخص :

يركز عملنا على دراسة تكرير السكر و أهمية هذه الاخيرة في عملية التصنيع و مطابقة المنتج النهائي من السكر الأبيض للمعايير. و يدرس كذلك طرق تثمين المنتجات الغير أساسية "دبس السكر" لإدخالها كمادة أولية يمكن استعمالها في مجال الصناعات الغذائية. في هذا السياق ، تم إخضاع دبس السكر لسلسلة من التحليلات من أجل تحديد وتقييم تركيبة الكيمياء الحيوية الخاصة به من أجل تثمينها. تم تحديد كمية كبيرة من مضادات الأكسدة في "دبس السكر" بواسطة طرق TAC ، FRAP و DPPH. محتوى البوليفينول في دبس السكر هو $6 \cdot 10^{-2} \text{ مغ/مل}$ التي تحددتها طريقة سينجلتون و روسي (1965) التخمير الكحولي لدبس السكر من قبل الخميرة السكرية جعل من الممكن إنتاج ($48,5 \text{ غ / لتر}$) ، كشف تحليل نواتج التقطير بواسطة تحليل كروماتوجرافي طوري للغازات الإيثانول بنسبة 99.15% في نواتج التقطير. **الكلمات المفتاحية:** دبس السكر ، تثمين ، مضادات الأكسدة ، التخمير الكحول.

Remerciements

Nos remerciements à ALLAH, le tout puissant qui nous a Procuré, la patience, la force et le courage d'aller au bout de notre objectif

En premier lieu nous tenons vraiment à exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude à notre promotrice, Mme BENLALAK .N pour nous avoir encadrées, En nous faisant bénéficier de ses connaissances, de son aide et de ses conseils et orientations durant la réalisation de ce travail

Nous tenons à exprimer nos remerciements au directoire de la GRD, pour nous avoir fait le grand honneur de nous accepter comme stagiaires au sein de son entreprise.

Nous souhaitons a dresser nos remerciements les plus sincères à

M. HACINE D notre encadreur au niveau de GRD LA BELLE, qui avec son expérience nous a guidé le long de notre stage Leur conseils et recommandations ont été précieux pour l'aboutissement de ce travail

Nous tenant également à exprimer nos profond respect et remerciement a M MEBARKI pour son aide et son soutien et encouragement durant la réalisation de ce travail

Notre remerciement à Mme GEUNANE A pour sa générosité, son aide et son soutien durant notre travail dans le laboratoire de GRD LABELLE

Un très grand merci, à l'ensemble du personnel de laboratoires, de la raffinerie du sucre la belle, et à la responsable de laboratoire Mme BOUR S pour leur aide, leur conseil.

Nous tenant aussi à remercier les membres de jury d'avoir accepté à examiner notre travail.

Nos vifs remerciements s'adressent également a tout les responsable des laboratoires de génie des procédé surtout a M .LOUBNA pour son aide et ses encouragement durant notre travail.

. En fin nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

En ce moment chaleureux dans ma vie, je tiens à remercier Tout d'abord le bon DIEU le tout Puissant qui m'a procuré du courage et de la volonté pour réaliser Ce modeste travail que je dédie :

A mon cher père qui a été un exemple pour moi, et qui a veillé à ma réussite, Symbole de reconnaissance et de remerciement sur tout ce qu'il ma donné dans ma vie Et à qui je ne pourrais le rendre assez

A ma chère maman qui m'a appris à être une femme, je la remercie pour sa Confiance et ses sacrifices et à réussir notre education

A mes deux chers frères et Mes soeurs que je souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussite.

A mon chère grand père et mes deux grands mères

A mes chère oncles et tantes

A mes chér cousins et cousines que j'aime et à qui je souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussite.

A la mimoire de mon grand père , mes deux ancle et ma tante

A ma cher binôme sara pour le parcours que nous a fait ensemble ainsi qu'à toute sa famille

A toutes mes amies.et à toute la promotion MGA 16

YASMINA

Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Ma mère, Qui a été toujours là pour moi.

Mes frères: Touati, Redouane, Hamza, mes sœurs Ahlame et sa fille Arwa et

Ratiba et mes belles sœurs.

Ainsi que toute ma famille.

Toute notre promotion M2 MGIA 16

Ainsi qu'à tous mes autres amis sans exception.

Et enfin à mon amie DAHMANI YASMINA et sa famille

Sara

sommaire

introduction-----	1
Chapitre I : L'industrie sucrière -----	3
I.Généralités sur l'industrie sucrière -----	3
I.1.Production du sucre brut-----	3
I.2.La betterave sucrière -----	3
I.3.La canne-à- sucre -----	4
I.3.1.Composition de la canne à sucre -----	5
I.3.2.Historicité de la canne à sucre -----	5
I.3.3. La culture de la canne à sucre-----	6
I.4. La différence entre la betterave sucrière et la canne à sucre-----	7
I.5. Procédé d'extraction du sucre de canne -----	9
I.5.1. Les moulin (sucreries) -----	9
I. 5.2. Les raffineries -----	13
I.6.Les produits issus de l'industrie sucrière -----	22
I.6.1.Définition du sucre (saccharose) -----	22
I.6.2.Propriétés physico chimique du sucre (saccharose) -----	22
I.6.3.Les variétés du sucre-----	26
I.7.Les sous et coproduits de l'industrie sucrière. -----	27
I.7.1.Définition -----	27
I.7.2.Le bagasse -----	27
I.7.3.La vinasse -----	28
I.7.4.les boues -----	29
I.7.5.Les eaux usées -----	29
I.7. 6.la mélasse -----	29
Chapitre II : Production du bioéthanol -----	31
II.1.Définition du bioéthanol-----	31
II.1.1.Utilisation industrielle du bioéthanol-----	32
II.1.2. Propriétés physicochimiques de l'éthanol -----	32
II.1.3. Propriétés physiques -----	32
II.2.Procédés de production du bioéthanol -----	33
II.2.1. Les microorganismes utilisés pour la production du bioéthanol-----	34
II.2.2.Généralités sur les Saccharomyces cerevisiae -----	35
II.2.3. Caractéristiques généraux des Saccaromyces Sereviciae -----	35

II.2.4. Métabolisme fermentaire des levures-----	36
II.3.Paramètres influençant le métabolisme fermentaires des levures.-----	38
II.3.1. La composition du milieu -----	38
II.3.2.Les gaz dissous -----	40
II.3.3.La température-----	40
II.3.4. L'acidité-----	40
II.3.5. Agitation mécanique -----	40
II.3.6. L'effet Crabtree -----	41
II.4. Différents procédés de fermentation -----	41
II.4.1. Le mode discontinu -----	41
II.4.2. Le mode semi-continu -----	41
II.4.3. Le mode continu -----	41
 Chapitre III : Matériel et méthode-----	 43
III.1. Présentation du processus de farinage de sucre -----	43
III.2.Analyse physico-chimique de la matière première -----	44
III.2.1. Détermination de l'humidité du sucre roux -----	44
III.2.2.Détermination des cendres conductimétriques du sucre roux-----	44
III.2.3. Détermination du pH de la solution sucrée -----	45
III.2.4.Détermination de la coloration du sucre roux -----	45
III.2.5.Détermination du polarisation dans le sucre roux -----	46
III.2.6.Détermination de la teneur en amidon dans le sucre roux-----	47
III.3.Analyses physico-chimiques du produit fini-----	47
III.3.1. Détermination des cendres conductimétriques -----	47
III.3.2.La coloration du sucre Blanc -----	48
III.3.3.Détermination de la filtrabilité/colmatage du sucre Blanc -----	49
III.3.4. Détermination de la matière insoluble du sucre blanc -----	49
III.3.5.Détermination des points Blanc et les points noirs du sucre blanc-----	50
III.3.6. Test de floc après acidification Sucre Blanc-----	50
III.3.7.Détermination de l'aspect visuel du sucre Blanc -----	51
III.3.8. Tests Odeur/gout/apparence/odeur après acidification sucre Blanc-----	52
III.3.9. Granulométrie du sucre blanc-----	53
III.3.10.Contrôle microbiologique de sucre par filtration sur membranes -----	54

III.4. Analyses physico-chimiques de l'eau de processus	55
III.4.1. Titre hydrométrique (TH)	55
III.4.2. Titre alcalimétrique simple (TA)	55
III.4.3. Titre alcalimétrique complexe	55
III.5. Analyse des écumes de filtre presse	56
III.5.1. Détermination de la matière sèche des écumes	56
III.5.2. Détermination de polarisation des écumes	56
III.6 .Analyse physico-chimiques de lamélasse	56
III.6.1. détermination des sucres réducteurs dans la mélasse	56
III.6.2. Détermination des cendres totales dans la mélasse	57
III.6.3. Détermination de la composition en sel minéraux	58
III.6.4. Détermination de la viscosité de la mélasse	58
III.6.6. Détermination du pouvoir antioxydant de la mélasse et le sucre roux	59
a. Activité antioxydante totale	60
b. Méthode à la réduction de fer	60
c. Effet radical-balayage de DPPH	61
III.6.7. Dosage des composée phénoliques totaux	61
III.6.8. Dosage de HMF par spectrophotométrie UV-visible	62
III.7. Valorisation de mélasse pour la production de biléthanol	62
III.7.1. Préparation du milieu de fermentation	62
III.7.2. Préparation de l'agent biologique de fermentations	63
III.7.3. Déroulement de la fermentation alcoolique	63
III.7.4. Suivie de la fermentation	64
a. Détermination du degré Brix	64
b. Détermination des sucres réducteurs	64
c. Détermination du pH	65
d. Détermination de L'acidité du milieu	65
e. Détermination de l'oxygène dissous	65
f. Détermination de l'indice de brin dans le mout	65
g. L'indice de formole	65
h. Dosage de l'éthanol	65
i. Détermination de la masse volumique et la densité relative	66
III.7.5. Etude de l'influence du Brix et du pH initial	67
III.7.6. Purification de l'éthanol	69
III.7.7. Caractérisation de l'éthanol pur.	70

a.Détermination de la densité relative.....	70
b.L'odorat de l'éthanol	70
c. Analyse de l'éthanol par chromatographie phase gazeuse	70
III.8.Essai de production de l'acide acétique (vinaigre)	71
III.9.Inversion enzymatique du saccharose de la mélasse	72
III.9.1.Essai de l'activité enzymatique de l'invertase sur le sucre blanc purifié.....	72
Chapitre IV : Résultat et discussion	75
IV.1. Analyse et control de la qualité des produit de la raffinerie	75
IV.1.1. Analyses physico-chimique du sucre roux.....	75
IV.1.2. Analyses physico-chimique de sucre blanc	75
IV.1.3. Analyses de l'eau du processus	78
IV.1.4.Analyses microbiologiques du sucre blanc	79
IV1.5.La qualité de sucre labelle	79
IV.1.6.Analyse des sous-produits	80
IV.1.6.1. Les écume	80
IV.1.6.2. Analyses physicochimique de la mélasse.....	80
IV.2.Valorisation de la mélasse.....	81
IV.2.1.Teneur en composés phénoliques totaux dans la mélasse.....	84
IV.2.2.Détermination du pouvoir antioxydant.....	85
IV.2.3.destination de la mélasse à a production du bioéthanol	88
IV.2.4.Analyse du bioéthanol produit	96
a. La densité	96
b. L'odorat du bioéthanol	96
c. Dosage de l'éthanol par chromatographie en phase gazeuse (CPG)	96
IV.2.5.Essai de production du vinaigre	99
IV.2.6.Essais de production d'un sirop de glucose par inversion enzymatique.....	100
IV.2.7.Application de l'invertase à l'hydrolyse du saccharose dans la mélasse.....	102
conclusion	103

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
1	Composition moyenne de la betterave sucrière	4
2	Composition du vesou	9
3	Propriétés physiques de l'éthanol	33
4	Composition approximative de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en macroéléments	39
5	Composition approximative de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en ions métalliques, besoins et limites dans le milie	39
6	Niveau des variations des facteurs	68
7	Conditions opératoires de la CPG de l'éthanol	71
8	Préparation des solutions pour l'étude de l'inversion de saccharose	73
9	Analyse physico chimique du sucre roux	75
10	Analyse physico chimique du sucre blanc	76
11	Les résultats des tests odeur, goût, apparence et odeur après acidification de sucre Blanc.	77
12	Résultat de La granulométrie de sucre blanc	77
13	Dimension moyenne des cristaux calculée par LE PCLAB	77
14	Analyses de l'eau (GRD LA LELLE)	79
15	Résultat microbiologique de sucre blanc	79
16	Résultat de matière sèche et de polarisation des écumes	80
17	Résultats des analyses physicochimique de la mélasse réalisées dans le laboratoire de la raffinerie	81
18	Analyse complémentaire de la mélasse	82
19	Résultat de la mesure de la viscosité de mélasse	83
20	Teneur en composés phénoliques totaux dans l'extrait méthanoliques de la mélasse et le sucre roux.	84
21	Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de la mélasse et de sucre roux	85
22	Table de la matrice expérimentale	88
23	Analyse de la variance ANOVA	89
24	Les valeurs des coefficients en unité codées	91
25	les résultats des paramètres suivis pendant la fermentation	92
26	Résultats de l'analyse chromatographiques de l'éthanol	97
27	Etude de l'inversion du saccharose par polarimétrie (dosage des sucres)	100

28	Inversion de saccharose par de l'invertase	101
29	Résultat de l'application de l'invertase dans la mélasse	102

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
1	Betterave sucrière	4
2	La canne à sucre	5
3	Répartition des constituants de la canne à sucre	5
4	La différence entre la betterave sucrière et la canne à sucre	8
5	Schéma récapitulatif de la production du sucre de canne	10
6	Shéma de cristallisation	12
7	Raffinage du sucre	13
8	Réception de sucre roux	14
9	Entreposage de sucre roux en pile	14
10	Diagramme de l'épuration de sucre	21
11	Diagramme de cristallisation de sucre	22
12	structures du saccharose	23
13	Le bioéthanol de la production à l'utilisation	31
14	Structure de la molécule d'éthanol (ACS)	32
15	le procédé de production industrielle du bioéthanol à partir de la mélasse sucrière.	34
16	Saccharomyces cerevisiae	35
17	métabolisme des levures	38
18	Les trois types du procédé de fermentation	42
19	schéma du process de la raffinerie GRDLABELLE	43
20	image de conductimètre	45
21	image de pH-mètre	45
22	image de polarimètre	47
23	image de l'instrument de détermination la filtrabilité/colmatage du sucre Blanc	49
24	images de la détermination des insolubles dans le sucre blanc	50
25	images de la détermination de floc dans le sucre	51
26	images de la détermination de l'aspect visuel du sucre Blanc	52
27	images de la détermination d'odeur/gout/apparence/odeur après acidification sucre Blanc	52
28	images de la détermination Granulométrie du sucre blanc	53
29	images de granulometre Type <i>MASTERSIZER</i>	54
30	images de préparation du milieu de culture	54
31	images d'appareil à infrarouge	56

32	images de la détermination du sucre réducteur dans la mélasse	57
33	images de la mélasse dans le four à moufle	57
34	images de Le photomètre à flamme	58
35	images de viscosimètre	59
36	Image de cellule de Malassez	63
37	images de protocole expérimental de production de bioéthanol	64
38	images de Dosage de l'éthanol	66
39	Niveaux des facteurs	68
40	images de la production du bioéthanol par méthodologie des plans d'expérience	69
41	Image de l'hydro distillation à 85 °C	69
42	Image de pycnomètre et de densimètre flotteur	70
43	Image de l'essai de fermentation acétique	72
44	Analyse granulométrique des sucres par diffraction Laser	78
45	image de la mélasse	81
46	Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des polyphénols totaux	84
47	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	85
48	Histogrammes de l'activité antioxydant de mélasse et de sucre roux par la méthode de TAC	86
49	Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et de la mélasse et sucre roux	86
50	Histogrammes des activités antioxydantes de mélasse et de sucre roux	87
51	Droite d'Henry	89
52	Diagramme de Pareto	90
53	Diagramme des effets principaux	90
54	Tracé des contours de l'influence du brix et pH sur la production de l'éthanol	91
55	Optimisation de la production de l'éthanol	92
56	Observation microscopique des levures sur la cellule de Malassez	93
57	Evolution de l'éthanol et du Brix pendant la fermentation alcoolique	94
58	Evolution des levures pendant la fermentation alcoolique	94
59	Courbe d'étalonnage de glucose	95
60	Variation de la matière sèche et l'oxygène dissout en fonction du temps de fermentation	95
61	Chromatogramme D1	97
62	Chromatogramme D2	98
63	Chromatogramme D3	98

64	Les résultats de l'isolement (milieu de Carr et le milieu des bactéries acétiques	99
65	Spectre de spectrométrie de masse de l'analyse des microorganismes par MALDI TOF MS	100
66	Courbes de la concentration de sucre réducteur en fonction du temps après inversion par de l'invertase	101
67	Courbe de la concentration de sucre réducteur en fonction de la concentration de saccharose	102

Liste des abréviations

GRD : GRANDE RAFFINERIE DAHMANI

HP : Haut produit.

BP : Bas produit.

SR : Sucre roux.

SB : Sucre blanc.

Pol : Polarisation.

ICUMSA : International Commission on Uniform Method sugar Analysis.

H : humidité.

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

Tr/min : Tour par minute

TAC : Capacité Antioxydant Totale (total antioxydant capacity)

DO : Densité Optique

Min : Minute

UV : Ultraviolet

N° ou n° : Numéro

ppm : partie par million

EAG : Equivalent d'acide gallique

MS : Matière Sèche

nm : Nanomètre

ADP : Adénosine diphosphate

ATP : Adénosine triphosphate

NADH+H+ : Nicotinamide adénine dinucléotide

FAD : flavine adénine dinucléotide

Pi : Phosphate inorganique



Historique du groupe *LaBelle*

Crée à la fin des années 1980, Le groupe *LaBelle* a débuté son activité d'abord dans le négoce international de denrées alimentaires et leur distribution sur le marché local : margarine, café, sucre, lait en poudre, légumes secs..., devenant rapidement un acteur économique majeur au plan national, dans le domaine de l'importation, du conditionnement et de la distribution des produits alimentaires.

Ensuite grâce à une politique soutenue d'investissements dans son domaine d'activité initiée dès les années 1990, le groupe *LaBelle* est devenu aujourd'hui une grande entreprise agro-alimentaire d'envergure nationale, employant 7600 collaborateurs et exploitant des usines modernes et performantes implantées sur tout le territoire national.

On site la Partenariat entre le français Cristal Union et le groupe *LaBelle* la Grande Raffinerie Dahmani *LaBelle* est entrée en production en mars 2016. Le projet porte sur 15 milliards de dinars (150 M€) d'investissement.

Présentation de l'entreprise

La raffinerie GRD *LaBelle*, située à 33 km d'Alger est entrée en fonctionnement le 15 Mars 2016. La construction de la raffinerie a nécessité un investissement d'environ 150

millions d'euros de la part de la joint-venture créée entre le Groupe *LaBelle* et CRISTAL UNION au travers de sa filiale CRISTAL RAFFINAGE.

La raffinerie produit un sucre industriel haut de gamme aux normes internationales et du sucre de bouche de 1ère qualité, en plus des sous-produits commercialisables consistant en de la mélasse et des écumes. Dans un premier temps l'usine va produire 350 000 T de sucre par an soit une capacité de 1000T/J.

Des prévisions d'extension porteront cette production à 700 000 T. Le sucre est commercialisé en sacs : 25 kg, 50 kg et big-bag de 1T dans un premier temps puis en camion-citerne, conteneur dans un proche avenir.

De même une production de sucre de bouche de 1kgs sera opérationnelle au cours du deuxième semestre 2018.

La raffinerie a permis la création de 450 emplois directs dans la région créant, par là-même un impact économique très important.

Information générale

Entreprise : Spa GRD LaBelle

Adresse : Hai Mouilha Ouled moussa W Boumerdes

Spa au Capital : 7 600 000 000 Da

Date de création : 2011. Inauguration 12/2015

Activité : Raffinage de sucre de cannes brut

Capacité de production installée :

Atelier de raffinage et de production de sucre Blanc cristallisé 1000 tonnes / jour.

Atelier des sous-produits : Mélasse et des écumes.

Produit conditionné :

Sucre blanc cristallisé en sacs de 25 kg, 50 kg et en Big Bag 1000Kg.

Capacité de stockage :

Sucre brut : 50 000 tonnes.

Sucre raffiné : 27 000 tonnes

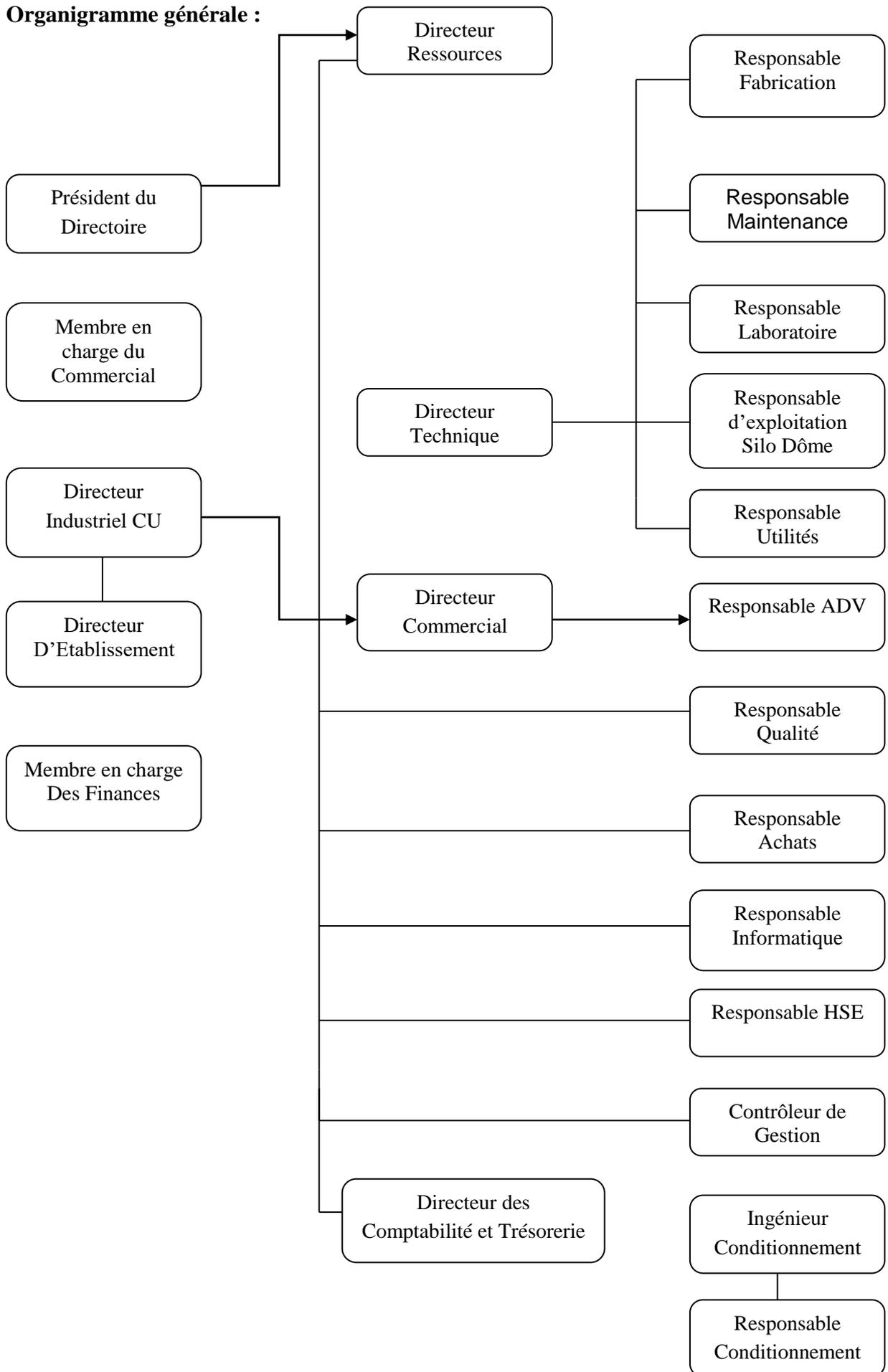
Des produits de qualité, appréciés de tous les Algériens.

Phone: (+213) 21 51 52 86

Fax: (+213) 21 82 92 67

Email: info@groupelabelle-dz.com

Organigramme générale :



Introduction

Introduction

Il semble que notre prédilection pour les douceurs est innée. Ces dernières incarnent pour la plupart d'entre nous un plaisir gustatif particulier très apprécié.

Alors qu'autrefois on édulcorait essentiellement avec du miel, aujourd'hui on emploie principalement le sucre cristallisé, appelé couramment « sucre de ménage » ou « sucre blanc ».

Le sucre est un produit alimentaire d'origine végétale, composé pour l'essentiel de saccharose et diverses substances naturelles appartenant à la classe des glucides responsables d'une des quatre saveurs gustatives fondamentales (le sucré). **Boucherba, N. (2015).**

Les coproduits de l'industrie sucrière sont la mélasse, la bagasse et les vinasses

Dans la perspective de faire connaître cette filière stratégique de l'industrie alimentaire nous nous sommes intéressés dans ce travail, à la technologie et toutes les opérations unitaire du raffinage du sucre roux, constituant la matière première de la production du sucre blanc.

En Algérie, il existe plusieurs entreprises qui produisent le sucre sous ses diverses formes (Cristallisées, morceaux, liquide...) et chacune d'entre elles cherchent à améliorer la qualité de son produit tant du côté microbiologique que physicochimique et ce afin de dominer le marché mondial. **LA GRD LA BELLE** en est un exemple. Pour cela notre stage effectué au niveau de cette unité permet de suivre ces deux paramètres de qualité (la qualité physico-chimique et la qualité microbiologique de sucre blanc.)

Notre thématique est une approche autour du contrôle de la conformité du sucre obtenu vis-à-vis des normes ICUMSA et ISO en vigueur tout en s'intéressant à l'évaluation du processus de fabrication du sucre blanc.

Les analyse physico-chimique et microbiologique réalisées au niveau de deux laboratoire contrôle de qualité du sucre sont illustrées et détaillées dans ce travail.

Par valorisation, on entend toute transformation de résidus ou de sous-produits industriels alimentaires en vue de les réintroduire sur le marché à titre de nouveaux ingrédients ou comme nouveaux produits.

Introduction

L'agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) définit la valorisation comme "le ré-emploi, le recyclage ou toute autre action visant à obtenir, à partir de déchets, des matériaux réutilisables ou de l'énergie".

Notre travail s'inscrit ainsi dans le cadre de valoriser l'un des sous produit de l'industrie sucrière « la mélasse » obtenue lors du raffinage de sucre roux au niveau de la **GRD LA BELLE**, ce sous produit se présente sous forme d'un résidu sirupeux, pâteux visqueux, de coloration brun noirâtre, incristallisable, obtenu après le turbinage de la masse cuite du 3^{ème} jet. Il contient encore du sucre mais son extraction est difficile est onéreuse.

De manière générale nous pouvons définir la mélasse comme étant la quantité de saccharose retenu par le non sucre. A partir du 16^{ème} siècle, la mélasse de canne à sucre servit à la production de l'éthanol (**Riess, 2012**). De nos jours la production de l'éthanol par les *Saccharomyces cerevisiae* est bien connue, néanmoins l'amélioration de la productivité et les procédés mis en œuvre reste indispensable.

Chapitre I : L'industrie sucrière

I. Généralités sur l'industrie sucrière

L'industrie sucrière ou sucrerie est une industrie de séparation et de purification dans l'objectif de partir d'une matière première la plus pure possible et de produire avec un rendement optimale un sucre de qualité. (Decloux, 2012)

la profession sucrière est associée au niveau internationale pour mettre au point les techniques d'analyses des différents produits de la sucrerie. Ainsi ICUMSA (International Commission on Uniform Method sugar Analysis) est constituée de différents groupes de travaux étudiant les améliorations possibles à apporter aux techniques existantes. L'ensemble des méthodes reconnues par la profession sont rassemblées sous forme de fiches dans un classeur facilitant leur utilisation. (Decloux, 2012)

I.1. Production du sucre brut

Le sucre de canne et le sucre de betterave sont produits dans la plante par photosynthèse. En effet, à l'aide de la lumière du soleil, les feuilles vertes de la canne à sucre et de la betterave sucrière convertissent le dioxyde de carbone (CO_2 = air usé) et l'eau en hydrate de carbone, c'est-à-dire en sucre (assimilation du CO_2). Le soir, les feuilles sont remplies de grains de féculs qui se transforment en eau sucrée. Ensuite, l'eau coule dans la betterave ou dans la canne, où elle est de nouveau convertie en fécul pour être emmagasinée jusqu'au moment de la récolte

(Amekhchoun, 2014)

I.2. La betterave sucrière

La betterave sucrière, appartient à la famille des chénopodiacées. Elle se présente sous la forme d'un bambou pouvant atteindre une hauteur de 50 cm et un diamètre de 2 cm à 5 cm. Il s'agit d'une plante cultivée dans les zones tempérées et ses principaux producteurs sont l'Inde, l'Indonésie et l'Amérique centrale.

Il est à noter qu'une betterave récemment récoltée contient à peu près 75,9 % d'eau. Le tableau ci-dessous présente la composition de la betterave sucrière, (Amekhchoun, 2014)

Partie Bibliographique

Tableau N°1 : Composition moyenne de la betterave sucrière

Composant	Eau	Sucre	Non-sucre	Pulpe
Teneur (%)	75.5	2.6	16	5,5

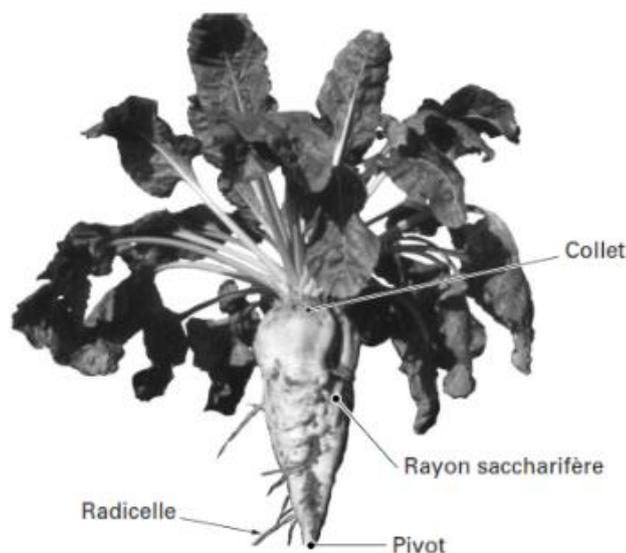


Figure N°1 : Betterave sucrière (DECLoux, M.2012)

I.3. La canne-à- sucre

La canne (ou *Saccharum officinarum*, dite « canne noble ») est une plante vivace. Son aspect rappelle le roseau et ses origines sauvages se situaient en Chine et en Nouvelle-Guinée. Elle se reproduit par bouturage ; au fil de la croissance, le sucre s'accumule dans les tiges jusqu'à un maximum appelé « maturité » : c'est le moment optimal pour la récolte. Sa tige peut atteindre jusqu'à 5 m de haut pour un diamètre de 2 à 6 cm. Dotée d'une écorce épaisse dont la couleur varie du jaune au violet, la tige est lisse mais divisée tous les 10 à 20 cm par des nœuds où prennent naissance ses longues feuilles caractéristiques. Une inflorescence portant les graines prolonge la tige à la manière d'une flèche argentée. Lors de la récolte, les tiges sont coupées au niveau des souches, qui repoussent pour être récoltées 10 à 12 mois plus tard (James et al., 1993)



Figure N° : 2 la canne à sucre: (a): Les tiges; (b): La plante de la canne à sucre
(<http://www.hear.org/starr/imageusepolicy.htm>)

I.3.1.Composition de la canne à sucre :

La composition de la canne à sucre est généralement décrite comme la somme de l'eau, de la fibre, du sucre (saccharose) et se non-sucre.

Le non-sucre est constitué de nombreux éléments: monosaccharide, (glucose et fructose), minéraux (potassium, silice, calcium, magnésium, sodium, chlorure, soufre et phosphore...), polysaccharides (amidon, cellulose, gommés, dextrans), protéines, corps gras (cires), polyphénols, acides organiques (aconitique, citrique, malique...) (**Rein, 2007**)

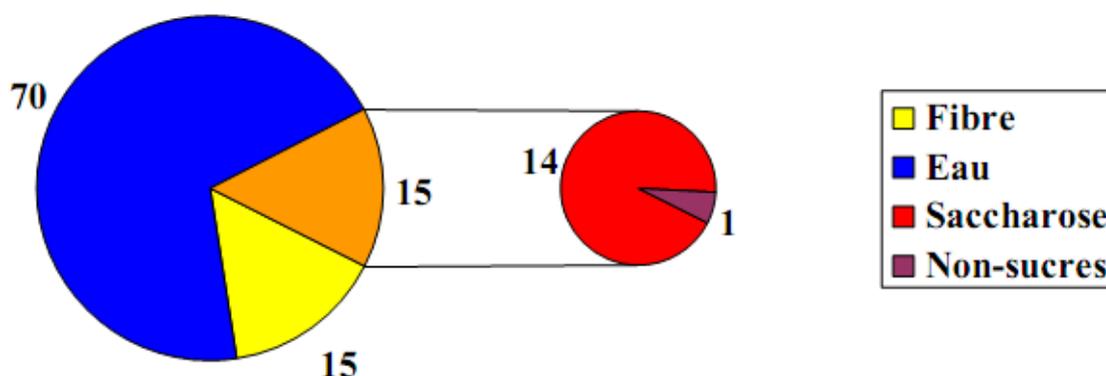


Figure N°3 : Répartition des constituants de la canne à sucre. (**Rein, 2007**)

I.3.2.Historicité de la canne à sucre

Au VIème siècle avant J.-C., les Perses envahissent l'Inde et en rapportent la canne-à-sucre et les procédés d'extraction du sucre. Ils cultivent alors la canne en Mésopotamie et gardent le secret de l'extraction pendant plus de 1000 ans. (**Afla., 2005**)

Partie Bibliographique

Les Arabes découvrent cette production en livrant bataille aux Perses près de Bagdad en 637 après Jésus-Christ. Ils développent avec succès la culture de la canne autour de la Méditerranée, jusqu'en Andalousie, grâce à leur maîtrise des pratiques agricoles, notamment l'irrigation. Alors que la civilisation arabo-andalouse et méditerranéenne devient experte en sucre, les autres régions d'Europe le considèrent toujours comme une rareté. (Afla, 2005)

Il faut attendre les Croisades, à partir du XII^{ème} siècle, pour que ces régions européennes s'y intéressent. (Afla, . 2005)

Ce long bambou, originaire d'Asie, s'est répandu à partir du XVI^{ème} siècle dans toutes les zones tropicales à forte pluviométrie, des Canaries à la vallée du Nil, de l'Afrique aux Amériques. (Afla, . 2005)

Et Cette plante vivace, venant de l'Asie tropicale, plus précisément des îles polynésiennes est utilisée beaucoup comme matière première en sucrerie et en distillerie (Durosier, 1979).

En apportant des plants de canne à sucre en 1493 dans l'île de Saint-Domingue, Christophe Colomb permet le développement sucrier des nombreuses terres tropicales colonisées au XVI^{ème} et au XVII^{ème} siècle, notamment les îles caraïbes et l'Amérique latine. (James et al., 1993)

De nos jours, plus de cent pays cultivent la canne à sucre sur 130 000 km². Les vingt premiers ont récolté 1 199 millions de tonnes en 2004, soit 91 % de la production totale mondiale (1 317 millions de tonnes). Les plus gros producteurs sont le Brésil, l'Inde et la Chine, contribuant respectivement pour 31 %, 19 % et 7 % de la production totale mondiale. À l'heure actuelle, la canne à sucre fournit environ 74 % de la production mondiale de sucre . (Afla, . 2005)

I.3.3. La culture de la canne à sucre

La culture de la canne à sucre s'étend dans les régions situées de part et d'autres de l'Équateur, entre les latitudes 35° Nord et 30° Sud (régions tropicales et subtropicales). Ainsi, on la trouve en Floride, au Texas, en Louisiane, aux Antilles, à Hawaï, en Amérique Centrale et en Amérique du Sud jusqu'au Nord de l'Argentine, en Indonésie, en Thaïlande, aux Philippines, en Chine, en Inde, dans les îles de l'Océan Indien, au Sud de l'Espagne, en Australie et, plus récemment, en Afrique. Sa croissance végétative est favorisée par des températures élevées, entre 26 °C et 34 °C. (Afla, A. 2005)

Partie Bibliographique

Par contre elle ne croît plus à des températures inférieures à 20 °C et elle ne tolère pas le gel. La plante se reproduit par bouturage, à partir d'un morceau de tige comportant au moins un nœud (voir Figure 2). La plantation se fait au début de la saison des pluies. Selon les pays, elle est manuelle ou mécanisée. (Afla ,2005)

La canne à sucre demande un sol aéré, assez riche et bien irrigué. La chaleur, la luminosité et l'ensoleillement sont également les facteurs clés pour une bonne récolte. (Afla, 2005)

I.4. La différence entre la betterave sucrière et la canne à sucre

À la différence de la betterave, la canne à sucre est cultivée dans les pays tropicaux. De ce fait, elle est exportée sous forme de sucre brut provenant des usines appelées « moulins » qui sont opérées dans le voisinage des champs de culture. Le raffinage du sucre brut est donc effectué par la suite dans les « raffineries » situées dans les pays importateurs.

À la base, le procédé d'extraction du sucre de canne blanc est assez semblable à celui du Sucre de betterave. Excepté pour l'étape d'extraction initiale, les opérations sont similaires. Lorsqu'on extrait du sucre brut dans les moulins, le procédé est légèrement différent puisque

l'épuration calco-carbonique n'a pas lieu. La décoloration du sucre est donc fait plus tard lors du raffinage. (Afla, . 2005).

L'industrie du sucre de canne est considérée comme un secteur mûr reposant sur les principes de base développés au XIX^{ème} siècle.

Cette industrie éprouve des changements, y compris des développements technologiques.

L'économie d'énergie a toujours été un point clé dans l'avancement de la technologie.(Afla, . 2005).

Partie Bibliographique

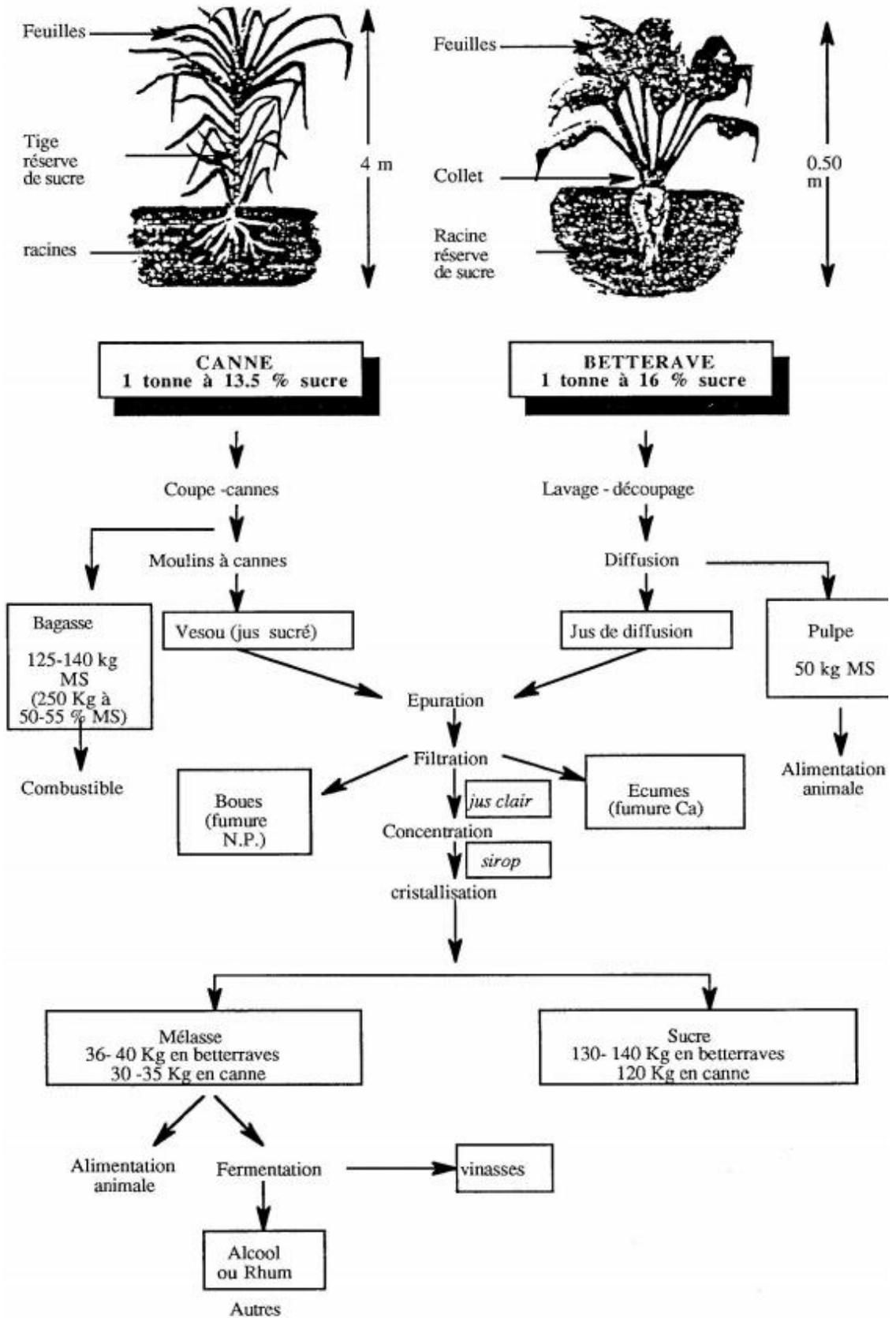


Figure N°4 : La différence entre la betterave sucrière et la canne à sucre (Boucherba, 2015)

Partie Bibliographique

I.5. Procédé d'extraction du sucre de canne (Figure N°5)

Un grand nombre d'opération unitaires de séparation sont mises en œuvre pour la production du sucre : (Decloux, 2002)

I.5.1. Les moulin (sucreries)

À son arrivée au moulin, la canne suit les opérations de base du procédé d'extraction du sucre de canne brut.

Ces opérations sont illustrées et décrites plus loin dans le texte. On peut observer ici que les moulins ne réalisent pas d'épuration calco-carbonique à proprement parler, mais plutôt une alcalinisation progressive. (Durosier, 1979).

Les opérations de base du procédé d'extraction du sucre de canne brut sont énumérées ci-dessous :

a. Extraction

Lors de l'extraction, les morceaux de canne à sucre passent dans une série de trois moulins cylindriques montés en triangle et tournant lentement (4 à 6 tr/min). La canne subit deux broyages dans chaque moulin donnant ainsi un liquide sucré, le « vesou ». Ce liquide est récupéré au-dessous du groupe de moulins et analysé en laboratoire afin de déterminer sa teneur en sucre. La « bagasse », résidu fibreux qui sort des moulins, sert de combustible à la chaudière qui alimente toute l'usine en vapeur.

Les moulins permettent d'extraire 92 % à 96 % du saccharose contenu dans les tiges de canne. (Afla, 2005)

Le vesou est de couleur brune assez trouble avec une composition et une qualité qui varient selon la variété et la qualité de la canne. L'intervalle pour la teneur de chaque composant du vesou est présenté au tableau n°2. Le saccharose représente entre 10 % et 18 % du vesou. (Afla, 2005)

Tableau N°2 : Composition du vesou

COMPOSANT	TENEUR (%)
Eau	80 – 85
Saccharose	10 – 18
Sucres réducteurs	0,3 – 3
Composants organiques	0,7 – 3
Composants inorganiques	0,2 – 0,6
Total	100

Partie Bibliographique

Le vesou a une composition différente à celle du jus de la betterave. Il est notamment riche en sucres réducteurs et en composants phénoliques qui favorisent le développement des couleurs foncées. (Afla, . 2005)

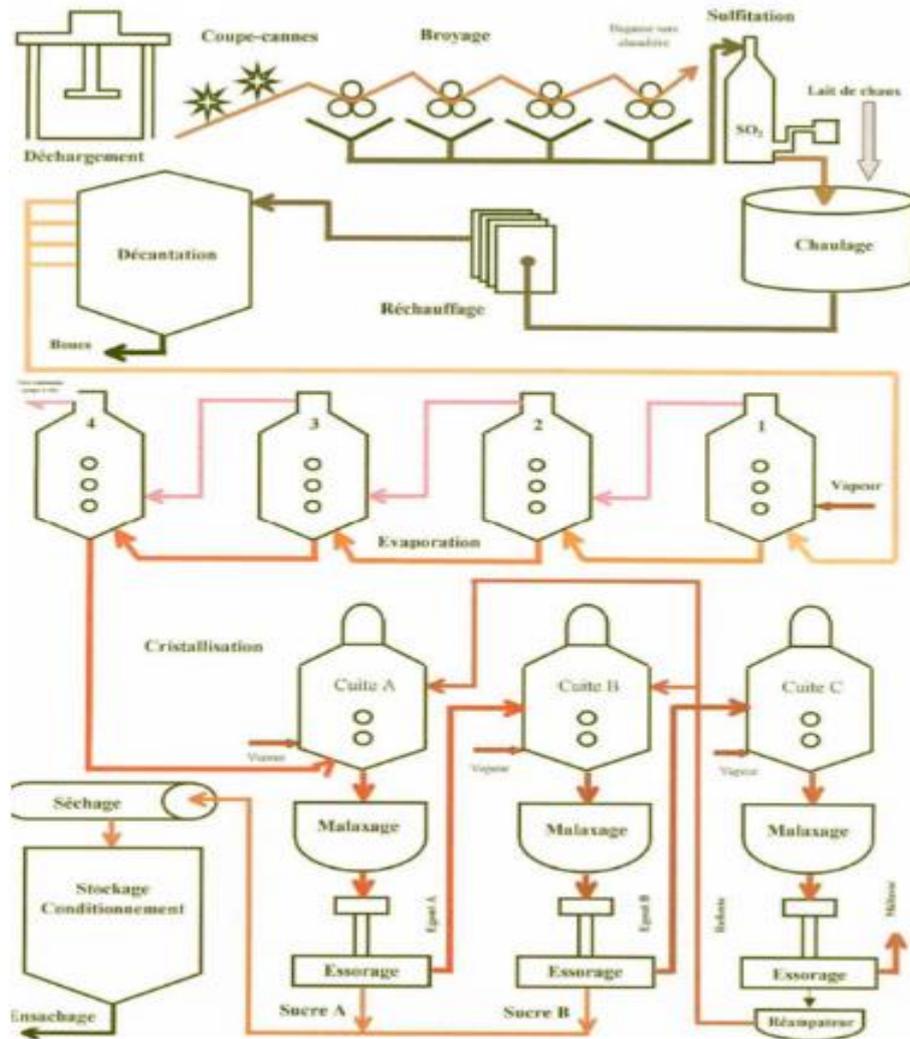


Figure N°5: Schéma récapitulatif de la production du sucre de canne.

b.Épuration

Le vesou qui contient un grand nombre d'impuretés est d'abord épuré par tamisage pour enlever surtout les particules ligneuses, et ensuite par chauffage et par ajout de chaux (chaulage). Une alcalinisation progressive du vesou jusqu'à un pH supérieur à 8 a donc lieu.

Après le chaulage, le vesou est porté à ébullition (105 °C) dans des réchauffeurs afin de favoriser l'insolubilisation du flocculat. Dans le clarificateur, le vesou décante et les impuretés noires ou « boues » se déposent au fond. Le jus clair obtenu en surface contient de nombreux sucres réducteurs, car l'épuration ne les détruit pas.

Partie Bibliographique

Les boues récupérées au fond du décanteur sont mélangées avec la fine bagasse (adjuvant de filtration) et sont filtrées sur des filtres rotatifs sous vide. Le jus obtenu est renvoyé en épuration, tandis que la boue (ou écumes) devient un sous-produit. (Afla., 2005)

c. Évaporation et cristallisation

Le jus clair est chauffé à différentes températures dans des évaporateurs à pression réduite (évaporation à simple effet). L'eau s'élimine sous forme de vapeur et le sirop est obtenu. Dans des chaudières à cuire, le sirop est chauffé à 55 °C et à pression réduite. Il se transforme en une masse pâteuse (masse-cuite) qui renferme des cristaux de sucre et un liquide visqueux appelé « liqueur-mère ». (Afla., 2005)

d. Malaxage et turbinage

La masse-cuite est malaxée et turbinée dans une centrifugeuse afin de séparer les cristaux de sucre et le sirop épuisé. On obtient le sucre de premier jet. Le sirop épuisé est malaxé et turbiné à nouveau pour obtenir le sucre de deuxième jet. Le sirop est encore malaxé et turbiné une deuxième fois pour l'obtention du sucre de troisième jet et de la mélasse. (Afla., 2005)

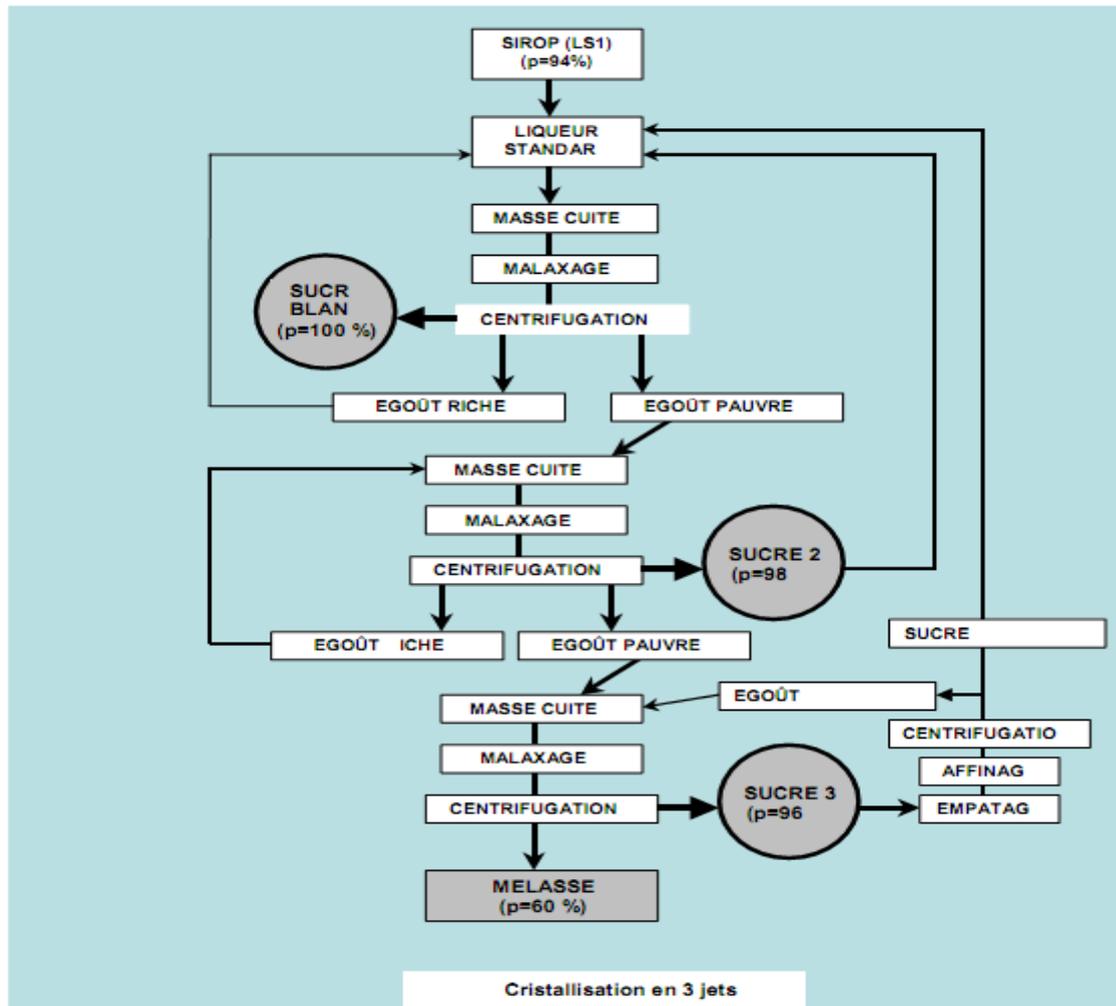


Figure N°6 : schéma de cristallisation

e. Séchage

Les cristaux de sucre sont séchés dans des granulateurs à tambour.

f. Emballage et entreposage

Pour la consommation locale dans les pays producteurs, le sucre brut obtenu est souvent vendu et consommé tel quel. Les cristaux de sucre sont donc mis dans des sacs.

Pour l'exportation, le sucre brut est entreposé en piles plusieurs jours et même plusieurs semaines, jusqu'à ce qu'il soit chargé sur les navires. Le sucre brut de canne est importé en vrac par cargo, pouvant transporter plus que 40 000 tonnes à la fois.

Dans ce travail, nous allons prendre soin de la canne à sucre parce que la GRD LA BELLE Importe un sucre roux extrais à partir de la canne à sucre.

I. 5.2. Les raffineries

Le raffinage du sucre de canne brut est fait dans des usines appelées raffineries.

Dans cette partie nous procéderons à une description succincte des principales étapes du procédé de raffinage du sucre brut appliqué dans la raffinerie de sucre GRD Labelle de Ouled Moussa.

I.5.2.1 Définition

Le raffinage est le procédé qui permet d'obtenir à partir du sucre brut (mélange de saccharose et de non- sucres) un sucre raffiné le plus pur possible et une mélasse contenant le maximum d'impuretés venant du sucre brut et le minimum de sucre. Et ce, dans des conditions les plus économiques possibles : économie d'énergie, d'emballages et des pertes en sucre. (Martine., 2012)

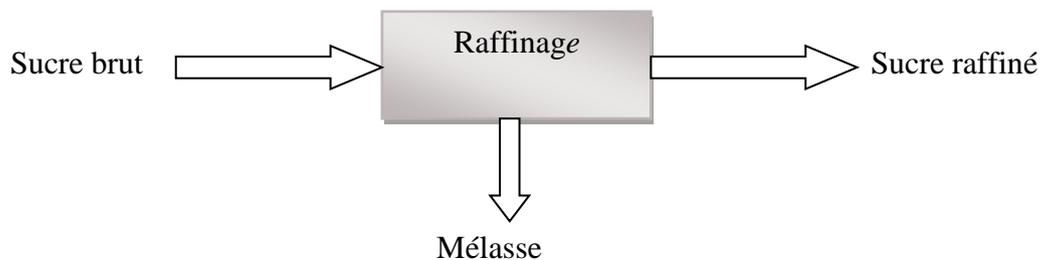


Figure N°7 : Raffinage du sucre

Dans le procédé de raffinage, il existe un certain nombre d'opérations qui permettent :

- De retirer les impuretés extérieures au cristal, c'est l'étape de l'affinage.
- De retirer les impuretés intérieures au cristal de sucre brut après refonte du cristal de sucre affiné, c'est la clarification.
- De retirer les colorants de la fonte par passage sur des résines anioniques, c'est l'étape de décoloration.
- De recristalliser le saccharose pour obtenir un cristal pur à partir de la solution purifiée c'est l'étape de cristallisation.

I.5.2.2. Processus de raffinage du sucre brut

A/ Partie épuration

L'épuration permet d'éliminer les impuretés incluses dans le système cristallin de sucre affiné, tout en ajoutant certains produits à la fonte pour agglomérer le floculant formé et faciliter la filtration.

1. Réception et stockage du sucre brut

La raffinerie de GRD La Belle reçoit un navire de 25000 tonne de sucre roux par mois de Brésil. Après la réception et la pesée à l'arrivée par un pont bascule de capacité allant jusqu'à 1000tonne/ heure. Le sucre brut est déchargé sur un convoyeur qui l'amène directement dans l'entrepôt où il est entreposé en piles. En passant par un tamis pour isoler les grosse impuretés et un aimant pour éliminer les métaux ferreux. Cet entrepôt peut contenir jusqu'à 60000 tonnes de sucre.

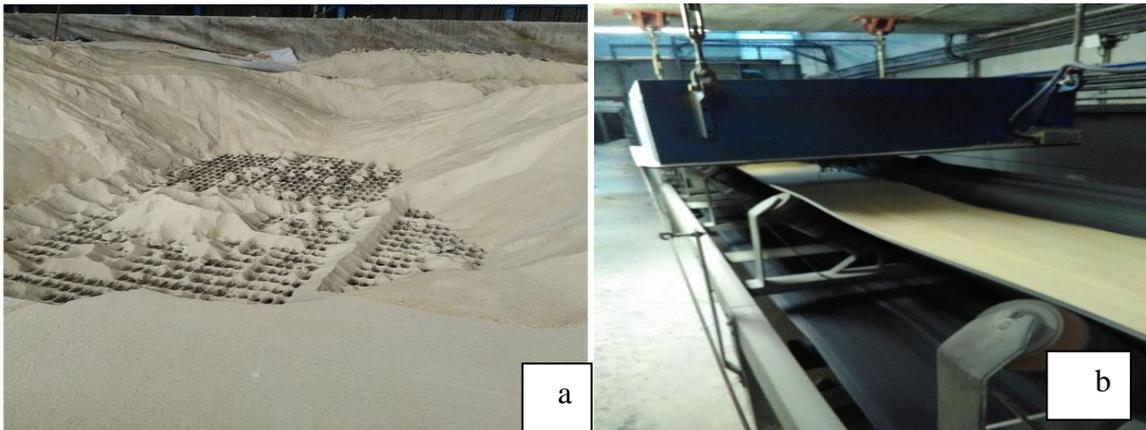


Figure N° 8 : réception de sucre roux ; a : tamis ; b : le convoyeur et l'aimant



Figure N°9 : entreposage de sucre roux en pile

2. Refonte principale du sucre brut :

La pesée du sucre roux à l'entrée de la production est assurée par la bascule cette dernière est alimentée par la trémie, encore le tambour egrugeonneur est une sorte de tamis rotatif qui permet la séparation du sucre d'éventuelles impuretés grossières (cailloux, morceaux de bois,...).

Partie Bibliographique

Ensuite le refondoir principale avec une capacité de 60 m³ qui reçoit le sucre brut, la refonte du sucre A, la refonte des sucres B et C, la refonte du sucre déclassé et les grugeons, les eaux sucres et le eaux chaudes Il est muni d'agitateurs, d'un circuit de recirculation du sirop ayant un Brix de 62° après le passage dans deux réchauffeurs de type Barriquand et d'un circuit de réchauffage à la vapeur a une température de 94 °C et un ph entre 7 et 7,2.

3. Chaulage et carbonatation :

Elle est constituée d'un bac chaaleur muni d'agitateurs qui reçoit le lait de chaux, et de deux caisses de carbonatation à système de distribution du gaz CO₂ crocodile, précédées chacune d'un réchauffeur de types Barriquand. La première possède une recirculation et pour la deuxième le circuit de recirculation était en cours de réalisation. Ce procédé consiste à additionner au sirop de chaux (préparé sous forme de lait de chaux) du CO₂ provenant des chaudières à vapeur et le faire barboter dans ce mélange. (MCG, 2008)

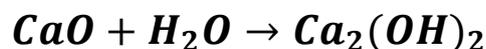
D'après (Rousseau ., 2002) La chaux sert à :

- Précipiter les sels de calcium insolubles.
- Déshydrater et flocculer le maximum de substances colloïdales.

• Description du procédé de chaulage

Le chaulage est un procédé d'épuration chimique qui consiste à introduire dans le chaaleur, bac, de la refonte brute et du lait de chaux, à l'effet d'éliminer les impuretés organiques contenues dans le sucre roux. La concentration de lait de chaux est très importante dans cette préparation qui dépend de la qualité du sucre brut et de la conduite de la carbonatation

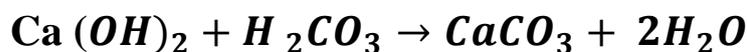
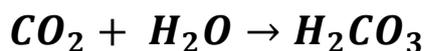
le lait de chaux est déjà préparé selon la réaction suivante :



Après le chaulage (ajout du lait de chaux), le pH du sirop varie entre 11 et 11.5 avec une température de 88 °C.

• Description du procédé de carbonations

L'objectif de l'étape de première carbonatation est de précipiter l'excès de chaux, principalement présente en suspension dans le jus. La chaux précipite sous forme de carbonate de calcium (Ca CO₃). Sur la surface des particules, s'adsorbent certains non-sucres qui se trouvaient en solution, surtout les colloïdes provenant de la décomposition du sucre inverti, car ils sont chargés négativement et la suspension de Ca CO₃ est chargée positivement.



- **Conduite de la première carbonatation**

Il s'agit de faire barboter le dioxyde de carbone dans le jus afin d'avoir la meilleure efficacité de réaction. Ce mélange s'effectue dans des « chaudières » de carbonatation à une température de 90 ° C.

Le réglage de la première carbonatation est généralement effectué à partir d'une mesure en ligne du pH généralement entre 9 et 10 et d'un contrôle régulier de l'alcalinité du jus en sortie par dosage chimique avec de l'acide sulfurique a 1 N.

- **Conduite de la deuxième carbonatation**

Le fonctionnement de la deuxième carbonatation est similaire à la première carbonatation, si ce n'est que le rendement des chaudières est moins bon car la réaction de précipitation de la chaux devient plus lente du fait de sa faible concentration. Les jus clairs de première sont portés à une température de 90 °C avant traitement. Une haute température du jus de deuxième carbonatation est la meilleure méthode pour limiter la solubilité des bicarbonates.

Cette conduite déroule à un pH compris entre 8,2 et 8,5.

4. La filtration

Cette étape permet l'élimination des impuretés internes qui sont précipitées lors de la carbonatation par séparation liquide solide à l'aide de filtres, afin de séparer le sirop et le précipité de la carbonatation, cinq de type Stellar de 200 m² qui ne permettent que le passage du sirop seul, alors que les carbonates de calcium (CaCO₃) s'accumulent autour de la toile en formant un gâteau (les boues) qui facilite la filtration, et on obtient enfin un sirop filtré qui est envoyé vers l'installation de résines échangeuses d'ions pour la décoloration. .

Cette étape est suivie par un passage par l'atelier de pressage des boues et de lavage des écumes comprend un compresseur à air avec ballon d'air comprimé, La filtration sous pression des boues permet d'obtenir :

- Des eaux sucrées collectées dans le bac à Eaux Sucrées

- Des écumes lavées, pressées et séchées, qui tombe sous les filtres presses pour être évacuer par chaleur

5. La décoloration

La décoloration du sirop filtré se fait sur colonnes échangeuses d'ions avec le procédé de nano filtration pour la régénération de la saumure.

Cette opération permet l'élimination des matières colorantes restant dans le sirop filtrée qui n'étaient pas éliminées au niveau de la carbonatation, par adsorption sur résines anioniques fortement basiques. La coloration du sirop filtré est due aux impuretés contenues dans le sirop filtrée qui peuvent être

- Des matières colorantes
- Des cendres et des sels dissous
- Des matières colloïdales.

6. Concentration

Cette étape a pour but de concentrer et augmenter le Brix du sirop de 60° à 72° venants de la décoloration en le réchauffant et l'évaporant pour le préparer à l'étape suivante qui est la cristallisation. en passant par deux corps d'évaporation à flot tombant (2 effets).

- **1^{er} effet :**

La refonte qui provient de la colonne de décoloration est dirigée vers le bac 2.7.1 puis envoyée par la pompe vers le concentrateur en passant par un débitmètre. Le concentrateur est alimenté par la vapeur produite par le bouilleur, détendu de (1.9b, 118.6°C) à (0.93bar, 97.5°C) via la vanne de détente. Les condensats de la vapeur chauffante du concentrateur sont récupérés par gravité dans le bac. Le prélèvement de vapeur du premier corps (0.66 bar, 88.4°c) est utilisé pour le chauffage du deuxième corps.

- **2^{eme} effet:**

La refonte concentrée au niveau du 1^{er} effet est conduite vers le deuxième effet 2.7.4 par débordement à l'effet d'atteindre le Brix ciblé qui est de 72 ° à sa sortie.

La refonte concentrée à 72 °Brix est transférée vers le bac à sirop concentré à l'aide de la pompe avant son envoi par une autre pompe vers le bac 2 d'alimentation des cuites, après avoir subi un chauffage au niveau du réchauffeur.

Les condensats du 2^{ème} effet sont dirigés vers le réservoir à condensat, alors que les vapeurs de prélèvement du second effet sont aspirées par le réchauffeur à eau adoucie et le vide. Le système de concentration est commandé par une boucle de régulation.

B/ Partie cristallisation

La cristallisation fractionnée est une opération physique qui permet l'extraction et la purification du sucre contenu dans le sirop. (**Decloux,, 2003**)

La cristallisation du saccharose se fait selon une chronique qui met en jeu deux paramètres : la couleur et la pureté (**Romain, et al.2007**). C'est selon ces deux paramètres que le nombre de jets est déterminé. Le cas le plus répandu est souvent la cristallisation en trois jets.

NB: Chaque jet comprend trois étapes principales : la Cuisson, le Malaxage et l'Essorage.

1.phase de Cuisson :

La cuisson se fait au niveau des appareils à cuire d'une capacité unitaire de 51 M3, travaillant sous vide. Les différentes phases de cuisson sont les suivantes :

a. Formation de pied de cuite :

Ouverture de la vanne d'alimentation en sirop (Brix 72%), jusqu'à ce que la plaque tubulaire supérieure du faisceau tubulaire de la cuite soit couverte complètement puis fermeture automatique de la vanne. A l'exception de ces deux vannes sus - citées toutes les autres vannes sont fermées.

b. Grainage

Une fois la phase de sursaturation atteinte, le grainage de la cuite se fait automatiquement par introduction de semence déjà préparée.

c. Montée de la cuite:

Après grainage, l'alimentation de la cuite en sirop se fait automatiquement par l'ouverture des vannes automatiques vanne, jusqu'à l'atteinte du niveau optimum de la cuite (volume utile de la cuite), suivant une rampe de concentration préétablie.

d. Serrage de la cuite

Avant la phase de serrage, la cuite valide si le volume du malaxeur permet sa vidange sinon, elle passe à l'eau. Durant cette phase, la vanne d'alimentation en sirop de la cuite se ferme automatiquement tandis que les vannes de vide, et de vapeur pcv, restent ouvertes. Durant cette phase le Brix de masse cuite est porté à la valeur souhaitée.

e. Coulée :

Une fois le Brix normatif de la masse cuite atteint, les vannes de vide et vapeur se ferment automatiquement, la vanne du casse vide s'ouvre, et la vanne de vidange s'ouvre progressivement pour permettre la coulée de la masse cuite dans le malaxeur correspondant.

f. Rinçage de la cuite :

Après la coulée de masse cuite, la vanne de vapeur, s'ouvre pour effectuer le dégraissage de la calandre et le faisceau tubulaire de la cuite. Les différentes vannes de la cuite notamment les vannes de vidange et alimentation en sirop seront également rincées à la vapeur. Des opérations de rinçage périodiques sont effectuées sur les hublots à l'eau chaude par l'ouverture d'une vanne manuelle.

Au cours de rinçage, la vanne de vidange s'ouvre et les condensats sont dirigés vers le malaxeur.

2. Phase de Malaxage

Le malaxage de la masse cuite se fait dans un malaxeur horizontal équipé d'un agitateur entraîné par un moteur électrique de puissance de 20 KW.

Les malaxeurs ont des volumes de 90 m³ pour les masses cuites HP1 et 82 m³ pour les masses cuites HP2 (hauts produits). L'opération de malaxage consiste à maintenir la masse cuite en mouvement d'une part et de continuer l'opération de cristallisation avant son envoi aux essoreuses d'autre part. Pour faciliter l'essorage de la masse cuite, il est recommandé de clairçer cette dernière avec de l'égout correspondant.

3. phase de Turbinage

Après malaxage, la masse cuite est déversée dans un malaxeur distributeur situé au-dessus de la batterie des centrifugeuses équipé d'un agitateur.

L'opération de turbinage consiste à séparer les cristaux de sucre contenus dans la masse cuite de l'eau mère par centrifugation.

❖ Conduite Cristallisation et centrifugation

Elle comprend la cristallisation des produits à haute pureté (HP) et la cristallisation des bas produits (BP). La cristallisation HP est réalisée dans 4 appareils à cuir discontinus de 60 m³ chacun:

Les deux premiers constituent le premier jet avec deux appareils (HP1A et HP1B) et le troisième appareil est réservé au deuxième jet (HP2) produisant du sucre blanc.

Partie Bibliographique

La cristallisation HP1A et HP1B donne des masses cuites qui sont essorées dans trois centrifugeuses discontinues type «FC C 412 », sans réparation des égouts. La masse cuite HP2 est essorée dans deux centrifugeuses discontinues « FC C 412 » identiques aux trois premières, mais avec séparation des égouts. L'égout riche est recyclé et mélangé avec l'égout de HP1A et HP1B pour constituer une L.S HP2. Le quatrième appareil est utilisé pour le troisième jet (HP3) et le quatrième jet (HP4). Après le passage des masses cuites HP3 et HP4 dans les malaxeurs, ces dernières sont essorées dans deux centrifugeuse continues HP3 et HP4 de type « BMA K 2300 », sans séparation des égouts et avec refonte incorporée. Les sucres 3 et 4 obtenus par cristallisation sont refondus et recyclés au niveau de la liqueur standard 1 où ils sont mélangés avec le sirop concentré. L'égout du quatrième jet (HP4) alimente la cristallisation des bas produits.

❖ La cristallisation des bas produits

Pour la cristallisation des bas produits, elle est constituée de deux appareils à cuire de 50 m³ chacun. Un pour la cuite A qui fonctionne en tant que cinquième jet de la cristallisation et donne une masse cuite A, qui après son passage dans un malaxeur de 60m³ est essorée dans une turbine de type « BMA K 2300 ». La refonte du sucre A est recyclée au niveau du refondoir principal et l'égout A alimente la cuite B qui constitue le sixième jet de la cristallisation.

L'appareil à cuire B/C sert de cuisson, intermittente, à la masse cuite B et à la masse cuite C constituant le septième et dernier jet de la cristallisation.

La masse cuite B est envoyée dans un malaxeur de 60 m³, puis essorée dans une centrifugeuse continue de type « BMA K 2300 » pour donner un sucre refondu qui rejoint la refonte B et C.

L'égout B alimente le dernier jet. La masse cuite C est envoyée dans un malaxeur horizontal de 60 m³ et centrifugée dans une essoreuse de type « BMA K2300 ».

On obtient un sucre C refondu qui rejoint la refonte commune B et C et de la mélasse.

La refonte commune B et C est recyclée au niveau d'un bac cigare contenant l'égout HP4 et le mélange des deux produits alimente la cuite A.

g. Séchage et refroidissement : Dimensionner pour 2000t/j

Le sucre blanc sortant des essoreuses contient encore de l'eau, entre 0.6 et 1%. Malgré ce faible taux d'humidité il peut altérer la qualité du sucre lors du stockage (colmatage, coloration...).

Partie Bibliographique

C'est pour cela qu'il est nécessaire de sécher le sucre afin de ramener son taux d'humidité aux alentours de 0,02% (variable en fonction de l'humidité de l'atmosphère).

Afin d'éviter la reprise d'eau, le sucre est refroidi directement après son séchage.

Après séchage, le sucre est tamisé, classé et pesé puis dirigé vers les ateliers de conditionnement ou il peut être directement emballé ou ensilé.

I. 5.2.3. Schéma de processus de raffinage de sucre GRD La Belle

Le schéma simplifié de l'ensemble de la cristallisation HP et BP est présentée comme suit :

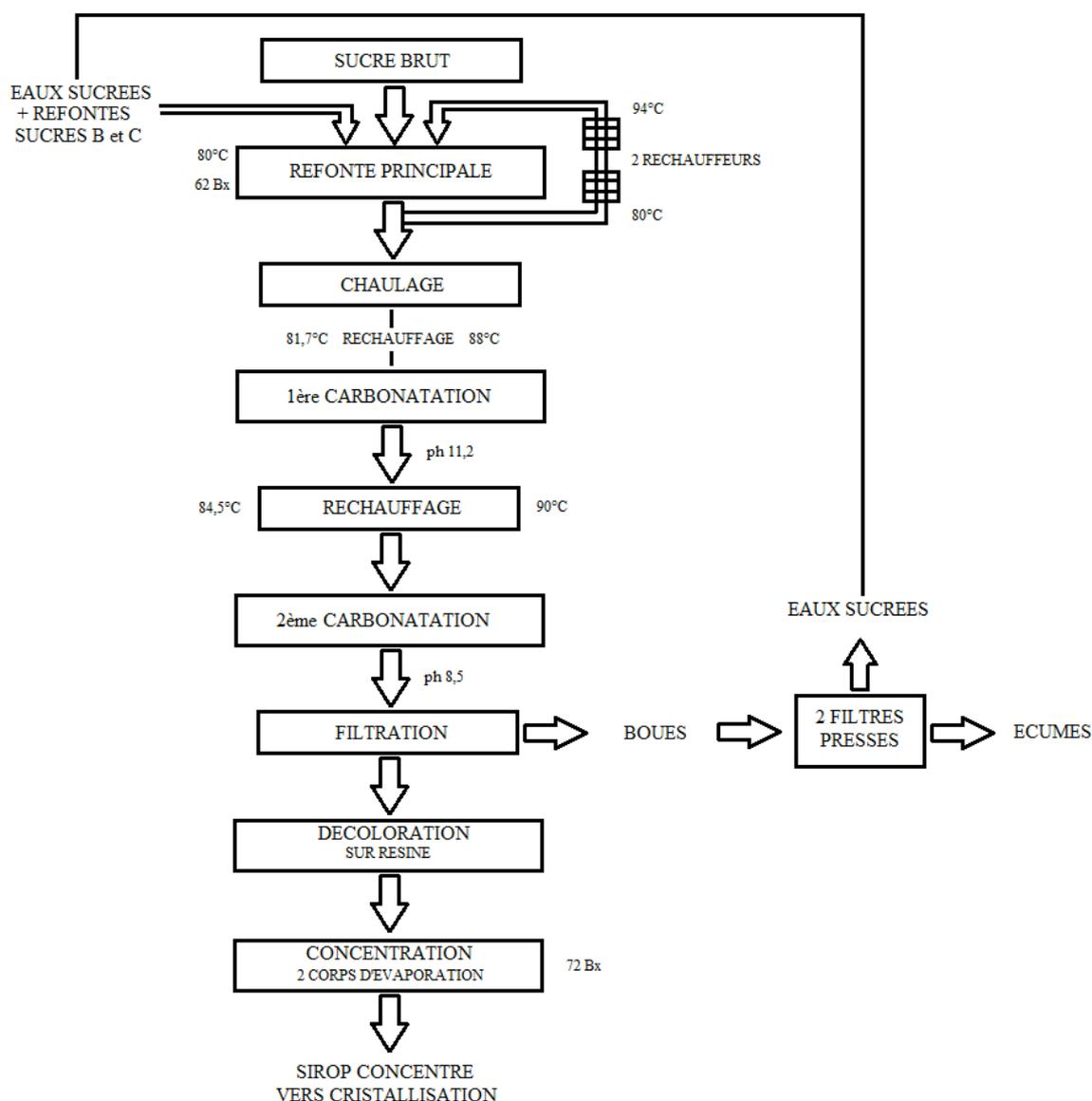


Figure N°10: diagramme de l'épuration de sucre

Partie Bibliographique

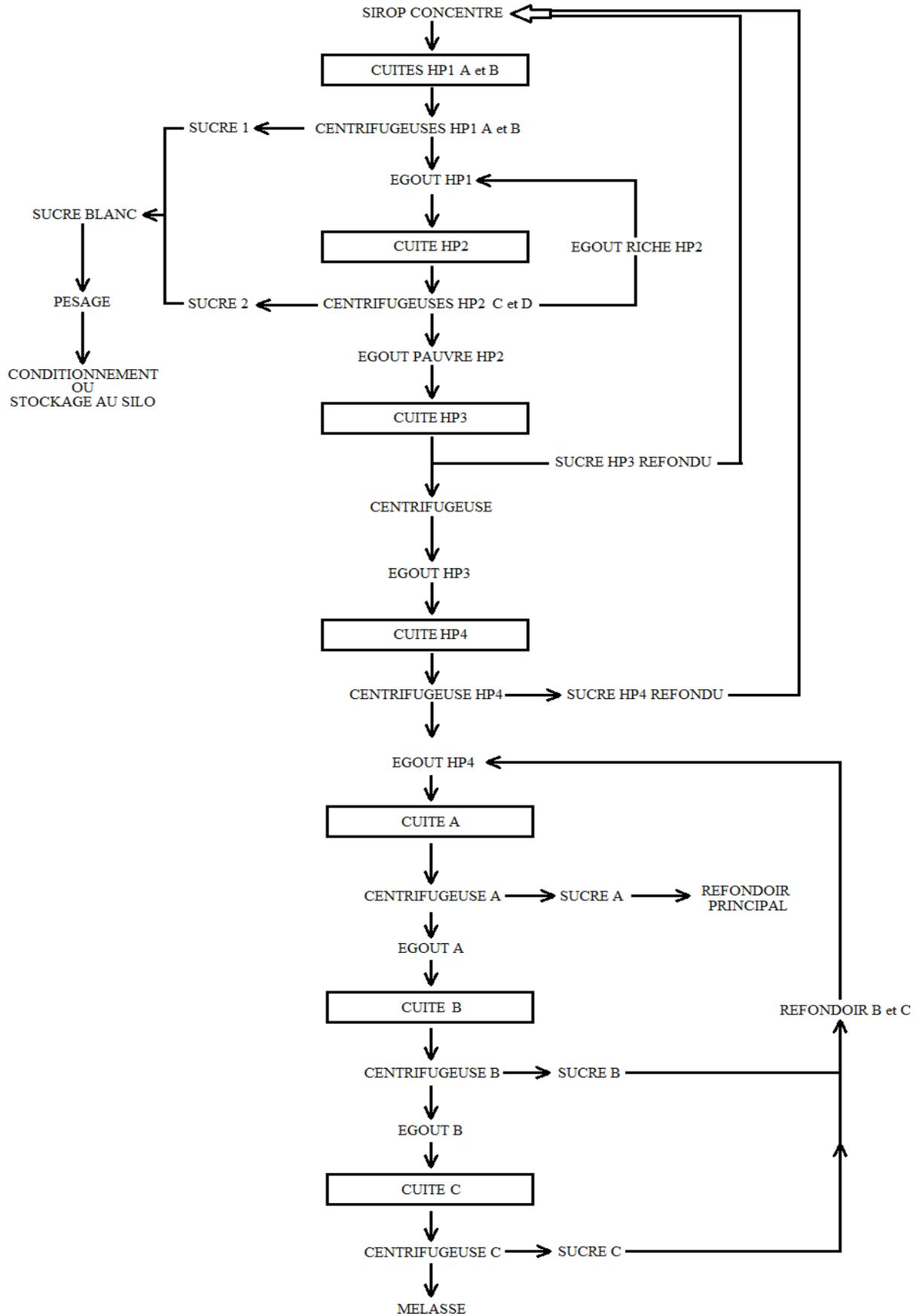


Figure N°11: diagramme de cristallisation de sucre

I.6. Les produits issus de l'industrie sucrière.

I.6.1. Définition du sucre (saccharose)

Le saccharose (Figure N°12) est un diholoside formé de la liaison du glucose et du fructose. C'est un sucre non réducteur de masse molaire 342 g/mol. Il est très soluble dans l'eau et les solutions impures. Sous forme cristalline sa densité est de 1 588 kg/m³, et son point de fusion de 160 °C, mais il se décompose à partir de 150 °C. (Decloux, 2012).

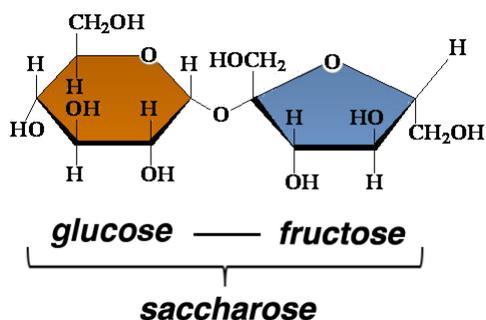


Figure N°12: structures du saccharose

I.6.2. Propriétés physico chimique du sucre (saccharose)

Le sucre est un solide très stable dans sa forme cristalline. À l'état pur, il est blanc, inodore et, évidemment, au goût sucré.

a. Température de fusion

La forme cristalline du sucre fond entre 160 °C et 186 °C. La température exacte dépend du solvant de cristallisation et de la pureté du sucre. (Afla, .2005)

b. Densité

La densité d'un seul cristal de saccharose est de 1,588. Pour un ensemble de cristaux, tel qu'une pile de sucre cristallisé, la densité apparente change légèrement selon la taille des cristaux et la distribution de cette taille en fonction du degré de tassement des cristaux. L'intervalle de cette variation est étroit et se situe autour de 0,8. Ceci se traduit par une masse volumique globale de 0,8 à 0,9 g/cm³ pour la majorité des produits. (Afla, 2005)

c. Solubilité

Le saccharose est très soluble dans l'eau, dans l'alcool et autres solvants polaires. Il est généralement insoluble dans le benzène et d'autres solvants organiques apolaires.

Partie Bibliographique

La solubilité du sucre dans l'eau est un sujet d'étude, puisque c'est un facteur important dans la production du sucre et son utilisation. De nombreux tableaux et des équations sont disponibles pour déterminer le point de saturation (solubilité maximale) des solutions de sucre à différentes températures et conditions. Une expression fréquemment utilisée est celle de D.F.

Charles qui exprime la solubilité (S) du sucre comme étant la concentration massique de la solution en termes de la température en degrés Celsius (T) :

$$S = 64,397 + 0,07251T + 0,002057T^2 - 0,000009035T^3 \quad (1)$$

Au point de congélation de l'eau, approximativement 180 g de sucre sont solubles dans 100 g d'eau, et presque 500 g de sucre sont solubles dans l'eau à son point d'ébullition. (Afla, . 2005)

d. Degré Brix

Puisque la connaissance de la quantité de sucre dissous dans l'eau est d'importance Industrielle, une série entière d'indices de mesure a été développée pour indiquer les Proportions relatives des deux matériaux. Le plus important indice est l'échelle Brix qui décrit la teneur en sucre dans une solution. (Afla, .2005)

L'échelle Brix est également employée pour mesurer des solutions aqueuses non pures. Ainsi, un indice Brix sera normalement employé pour obtenir la densité ou l'indice de réfraction correspondant à une solution qui, en pratique, correspond à une solution de sucre et d'eau pure à une température de référence, habituellement de 20 °C. Pour les solutions contenant d'autres substances, le Brix représente les solides apparents ou la densité apparente. (Afla, . 2005)

e. Indice de réfraction

Les solutions de saccharose réfractent la lumière proportionnellement à la quantité de saccharose en solution. Cette réfraction est employée comme une mesure de la densité de la solution, exprimée comme l'indice de réfraction. (Afla, .2005)

Puisque cette réfraction change avec la température et la longueur d'onde de la source lumineuse, ces deux facteurs sont normalement mentionnés quand l'indice de réfraction est reporté. Cet indice est habituellement mesuré à 20 °C et à une longueur d'onde correspondant à 589 nm. (Afla, . 2005).

L'indice de réfraction d'une solution de sucre 20 % (massique) est donc exprimé par :

$$N = 1,33299 \quad (\text{Afla, . 2005})$$

f. Rotation optique

Comme beaucoup de composants organiques, le saccharose est actif du point de vue optique. Lorsqu'un faisceau de lumière polarisée passe à travers une solution de saccharose, le plan de polarisation subit une rotation. Il s'agit d'une propriété intéressante pour des procédures analytiques puisque le degré de rotation du faisceau de lumière est proportionnel à la quantité de matériel optiquement actif présent. (Afla, 2005)

La rotation optique dépend aussi de la température et de la longueur d'onde. Elle dépend aussi de la longueur de cellules de mesure. En tenant ces trois variables constantes, il est possible de mesurer la quantité de saccharose présente dans une solution pure. La rotation optique est mesurée, par convention, avec une cellule de 100 mm de longueur, à 20 °C et avec une longueur d'onde correspondant à 589 nm. La rotation optique du saccharose s'exprime comme suit :

$$\text{Saccharose } [\alpha]_D = +66,53$$

Le signe indique que la rotation du plan de polarisation se fait par la droite (dextrogyre). (Afla, 2005)

g. Propriétés électriques

Le saccharose est non-conducteur, Une solution de saccharose pure n'a aucune conductivité en comparaison avec de l'eau pure.

Le saccharose, lorsque dissous, forme une solution neutre.

Le sucre commercial en solution a généralement un pH autour de 7 à 7,15. (Afla, 2005)

h. propriétés chimique

Tous les sucres sont réactifs. Cependant, dans le cas du saccharose, les principaux emplacements réactifs des molécules de glucose et de fructose sont fusionnés ensemble quand la molécule de saccharose est formée. Les deux monosaccharides sont pourtant beaucoup plus réactifs que le saccharose lui-même. En fait, ce sont des sucres réducteurs en raison de leur capacité d'agir en tant qu'agents réducteurs chimiques.

Le saccharose n'est pas un sucre réducteur qui est stable dans les solutions neutres jusqu'à 100 °C. Le fructose se décompose au-dessus de 60 °C, et le glucose et le fructose sont instables dans les solutions basiques. Dans ces conditions, le saccharose est le plus stable.

Dans les solutions acides, le saccharose s'inverse ou se décompose en ses deux monosaccharides, le glucose et le fructose. La vitesse de la réaction augmente avec l'acidité et la température. (Afla, 2005)

La plupart des réactions en milieu aqueux où le saccharose est impliqué commencent par la

réaction d'inversion. Il peut y avoir d'autres réactions telles que la décomposition thermique, la dégradation acide, la dégradation basique et la réaction de Maillard. (Afla, 2005).

I.6.3. Les variétés du sucre

Afin de tirer le meilleur parti de toutes ces qualités, le sucre est retrouvé en une large variété de formes et de couleurs. Des présentations les plus classiques aux spécialités modernes.

L'univers du sucre de canne se compose de huit variétés aux saveurs, aux arômes et aux usages spécifiques :

a. Le sucre blanc cristallisé

Est le plus pur, puisqu'il est constitué à 99,9 % de saccharose. Il est recueilli dans les turbines après concentration sous vide et cristallisation des sirops, au stade final de l'extraction en sucrerie. Il se présente sous la forme de cristaux plus ou moins gros. (Afla, 2005)

b. le sucre en poudre, ou semoule

Est obtenu après broyage et tamisage du sucre cristallisé blanc. Il se présente en cristaux d'environ 0,4 mm. (Afla, 2005)

c. Le sucre glace

Est une poudre blanche impalpable obtenue par le broyage extrêmement fin du sucre cristallisé blanc. De l'amidon est ajouté afin d'éviter son agglomération. Ses grains sont tellement fins que c'est le sucre qui se dissout le plus rapidement. Il se présente sous forme de cristaux inférieurs à 0,15 mm. (Afla, 2005)

d. Le sucre en morceaux

Est formé par compression et moulage de cristaux de sucre blanc ou brun encore chauds et humides. Le sucre en morceaux se présente sous la forme de dominos de taille variable, les calibres les plus fréquents sont le No. 3 (7 g) et le No. 4 (4,5 g). (Afla, 2005)

e. Le sucre en cubes

Blanc ou brun, est issu du concassage de lingots de sucre de canne, eux-mêmes obtenus par réhumidification, moulage et séchage des cristaux de sucre. (Afla, 2005)

f. Le sucre pour confitures

Est une spécialité élaborée pour les confitures, marmelades et gelées de fruits.

C'est un sucre cristallisé auquel sont ajoutés des ingrédients qui facilitent la prise des préparations (pectine naturelle de fruits, acide citrique). (Afla, 2005).

g. La cassonade

Est un sucre cristallisé brun obtenu directement à l'issue de la première cuisson du jus de canne. Moins pur que le sucre cristallisé blanc, ce sucre brun contient environ 95 % de saccharose ainsi que des impuretés résiduelles (sels minéraux, matières organiques) qui lui donnent sa couleur et ses notes aromatiques. (Afla, 2005).

h. Le sucre candi

Résulte de la cristallisation, pendant 10 à 12 jours, d'un sirop très pur concentré et chaud. Le sirop est ensuite refroidit lentement à température ambiante. C'est la caramélisation qui lui donne sa couleur brune caractéristique. (Afla, 2005).

I.7. Les sous et coproduits de l'industrie sucrière.

I.7.1. Définition

I.7.1.1. Sous-produit :

Un sous-produit est un produit résiduel qui apparaît durant le processus de fabrication, de transformation ou de distribution d'un produit fini. Il est non intentionnel, non prévisible, et accidentel. Il peut être utilisé directement ou bien constituer un ingrédient d'un autre processus de production en vue de la fabrication d'un autre produit fini. (Boucherba, 2015)

I.7.1.2. Coproduit :

Un coproduit est une matière, intentionnelle et inévitable, créée au cours du même processus de fabrication et en même temps que le produit principal. Le produit fini principal et le coproduit doivent tous les deux répondre à des spécifications de caractéristiques, et chacun est apte à être utilisé directement pour un usage particulier.

Les coproduits sont aussi caractérisés par leur valorisation économique : marché spécifique du coproduit en question, cotation...

En effet, à partir du moment où l'on cherche à valoriser un déchet, celui-ci devient un coproduit. (Boucherba, 2015)

I.7.2. Le bagasse

I.7.2.1. Définition de bagasse :

La bagasse est le résidu fibreux obtenu après broyage de la canne pour en extraire le jus.

(Boucherba,,2015)

I.7.2.2.Valorisation de bagasse

Une stratégie de canne-énergie a été développée depuis 1982. Après l'extraction du sucre, la bagasse est transportée vers les centrales thermiques pour produire de l'énergie, vapeur pour la sucrerie et électricité.

La bagasse est également à la base de production du furfural et d'hydroxyméthyl furfural comme c'est le cas en Afrique du Sud. Une grande proportion du furfural est réduite en alcool furfurylique, qui est une matière première pour diverses résines furaniques, caractérisées par une très bonne résistance à la température et aux agents chimiques agressifs, ces résines sont ensuite utilisées pour la fabrication de plastique. La bagasse est aussi une source de xylose obtenue par hydrolyse des hémicellulose. Le xylose peut être converti par réduction en xylitol qui est utilisé dans de nombreux médicaments, ainsi que dans l'industrie alimentaire, comme édulcorant naturel. (Boucherba, 2015)

I.7.3.La vinasse:

I.7.3.1. définition de vinasse :

Les vinasses constituent les principaux effluents des distilleries et les déchets les plus Problématiques de la filière canne-sucre-rhum. Ces résidus de distillation sont composés d'eau, de matières organiques issues de la canne à sucre et du métabolisme bactérien, de matières minérales (cuivre issu des plateaux des colonnes de distillation), d'ions ajoutés lors de la fermentation alcoolique. Les vinasses peuvent constituer une source non négligeable de pollution des eaux. De mesure doivent être misent en place pour élimination et traitement des vinasses. (Boucherba,,2015)

I.7.3.2.Valorisation en énergie et en molécules organiques

L'optimisation des techniques de méthanisation permettra la généralisation de la valorisation énergétique des vinasses avec un couplage à des chaudières alimentant la distillerie.

La pyrolyse de vinasse de betterave est en cours d'essais en Champagne Ardenne.

Cette technique permet de transformer la charge organique des vinasses en énergie.

La vinasse est une importante source de molécules avec notamment des acides organiques.

(Boucherba, 2015)

I.7.4.les boues

I.7.4.1.Définition des boues

Les boues d'épuration renferment une grande quantité de substances organiques, dont des cires et des graisses, qui pourraient être valorisées. Dans certains pays, elles sont utilisées pour fertiliser les sols cultivables. (Afla, 2005)

I.7.4.2.valorisation des boues (les écumes)

L'écume est généralement valorisée comme amendement organique des soles pour sa teneur en phosphore et en chaux.

Les cires contenues dans les écumes étaient récupérées au début du siècle dernier jusqu'en 1960, notamment avec une production de 6000 tonnes exportées par l'Afrique de sud. Elle était valorisée dans la préparation de peinture et de vernis et cette production a été arrêtée pour des raisons économiques. (Paturau,1969).

La récupération et l'identification des cires des écumes ont fait l'objet de récentes (Georges, 2005). Il existe de nombreuses voies de valorisations possibles pour ces cires notamment en cosmétiques et en pharmaceutiques et en pharmaceutiques. La séparation sur résine ou sur membranes permet le recyclage des effluents et une récupération des molécules prête à être valorisées. (Corcodel et Hoareau .2007)

I.7.5.Les eaux usées

Les nouvelles normes environnementales seront probablement de plus en plus strictes. Les eaux usées issues du process (lavage de la canne, eaux de process, lavage usine...) pourraient aussi être traitées par méthanisation pour récupérer de l'énergie qui pourrait compenser les couts de traitement. (Boucherba,,2015)

I.7. 6.la mélasse :

I.7.6.1.définition de mélasse

La mélasse est un coproduit visqueux issu du processus de fabrication de sucre et contient environ 40% à 60% de saccharose fermentescible par des microorganismes. (Dumbrepatil. et al ., 2008)

Elle est de couleur sombre de densité moyenne 1,4. Sa production est estimée à 4% des tonnages des usines de betterave et de canne à sucre. (Seidali, .et al 2016)

I.7.6.1.Valorisation de la mélasse

Par valorisation, on entend toute transformation de résidus ou de sous-produits industriels

Partie Bibliographique

alimentaires en vue de les réintroduire sur le marché à titre de nouveaux ingrédients ou comme nouveaux produits. **(paturau,1969)**

La mélasse est généralement valorisée en fermentation alcoolique (rhum, bioéthanol...), en nourriture animale, en fermentation pour la production de levures de boulangerie et dans diverses fermentations... **(paturau, 1969)**

De nombreuses molécules organiques sont présentes dans la mélasse. Certains de ces molécule ont une activité anti-oxydante et peuvent, après extraction, être valorisées comme antioxydants dans l'industrie pharmaceutique. **(payet, 2005)**

La mélasse peut subir différentes fermentations par des champignons, levures ou bactéries pour la production de molécules organiques comme l'acide citrique ou l'acide itaconique pour de nombreuses applications agroalimentaires ou dans les matériaux. **(Blackburn, .1984)**

Chapitre II : Production du bioéthanol

II.1.Définition du bioéthanol

Le bioéthanol est un alcool très pur obtenu par fermentation alcoolique de matières agricoles riches en Sucres provenant des plantes saccharifères (betterave, canne à sucre), amylacées (céréales, pomme de terre) ou ligno-cellulosiques (Figure n°10). Comme biocarburant, le bioéthanol peut être employé de deux façons, en addition à l'essence sous la forme d'un alcool anhydre qui ne modifie pas les performances des moteurs ou comme carburant unique dans des moteurs adaptés, en général à injection.

La fermentation alcoolique s'effectue à partir de sucres simples. Pour les plantes amylacées il faut donc au préalable transformer l'amidon en glucose. (Jean-Michel ., 2004)

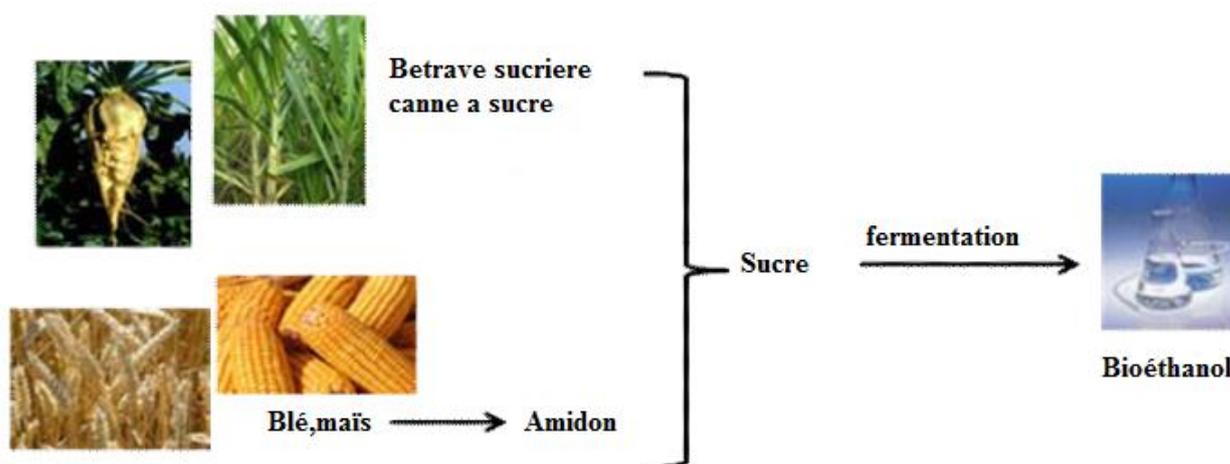


Figure N°13: Le bioéthanol de la production à l'utilisation

II.1.1.Utilisation industrielle du bioéthanol

En revanche de son utilisation essentielle comme biocarburant renouvelable, l'éthanol est un composé à usages très variés allant de la chimie à l'agroalimentaire, il est utilisé comme Riess, .2012 a cité:

- Solvant organique utilisé dans l'industrie des peintures, vernis, encres, matières plastiques, adhésifs, explosifs, parfums, cosmétiques, l'industrie pharmaceutique...
- Produit intermédiaire pour la production de nombreux composés : Le vinaigre ou l'acide acétique, acrylate, d'éthyle, acétate d'éthyle, éthers de glycol, éthylamine, éthylène, éthers-oxydes notamment l'ETBE (éthyl-tert-butyl-éther)...
- Désinfectant, biocide.

II.1.2. Propriétés physicochimiques de l'éthanol

L'éthanol, ou encore alcool éthylique, molécule de formule développée C_2H_6O comporte deux atomes de carbone liés (C), l'un portant trois atomes d'hydrogène (H), l'autre deux atomes d'hydrogène et une fonction hydroxyle (OH) (SCF).

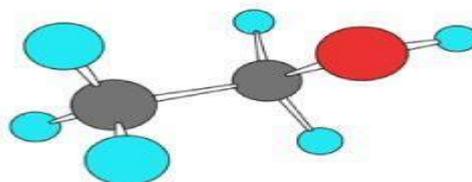
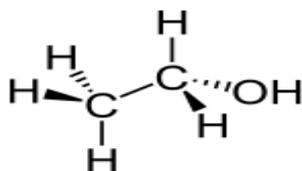


Figure N°14 : Structure de la molécule d'éthanol (ACS)

II.1.3. Propriétés physiques

L'éthanol est un liquide mobile, incolore, volatil, d'odeur plutôt agréable, décelable dès 84 ppm. L'éthanol est miscible à l'eau, le mélange se faisant avec dégagement de chaleur et contraction du liquide (INRS, **Éthanol, Fiche toxicologique n°48**).

Par contre il y a expansion du liquide lorsque l'éthanol est mélangé à de l'essence.

L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels. C'est un bon solvant des graisses. Le titre d'un mélange eau/éthanol est le rapport entre le volume d'alcool absolu contenu dans ce mélange et le volume de celui-ci à 15 °C ; il est exprimé en % en volume (INRS, **Éthanol, Fiche toxicologique n°48**). L'éthanol peut être commercialisé sous forme anhydre (éthanol à 100 % en volume appelé aussi **alcool absolu**) ou à différentes concentrations dans l'eau, principalement à 95 % et, pour des usages antiseptiques, à 70 %.(INRS, **Éthanol, Fiche toxicologique n°48**).

Partie Bibliographique

Tableau N°3 : Propriétés physiques de l'éthanol (source : INRS)

NOM SUBSTANCE	DÉTAILS	
Éthanol	N° CAS	64-17-5
	Etat Physique	Liquide
	Masse molaire	46,07
	Point de fusion	-114°C
	Point d'ébullition	78 à 78,5 °C
	Densité	0,789
	Densité gaz / vapeur	1,59
	Pression de vapeur	5,9 kPa à 20 °C 10 kPa à 30 °C 29,3 kPa à 50 °C
	Indice d'évaporation	8,3 (oxyde de diéthyle = 1), 2,4 (acétate de n-butyle = 1)
	Point d'éclair	13 °C (éthanol pur) ; 17 °C (éthanol à 95 % vol.) ; 21 °C (éthanol à 70 % vol.) ; 49 °C (éthanol à 10 % vol.) ; 62 °C (éthanol à 5 % vol.) (coupelle fermée)
	Température d'auto-inflammation	423 - 425 °C ; 363 °C (selon les sources)
	Limites d'explosivité ou d'inflammabilité (en volume % dans l'air)	limite inférieure : 3,3 % limite supérieure : 19 %
	Coefficient de partage n-octanol / eau (log Pow)	- 0,31

II.2.Procédés de production du bioéthanol

Actuellement, la production industrielle de bioéthanol est effectuée à partir de produits agricoles riches en amidon ou en saccharose qui sont facilement fermentescibles. Ces sucres servent de réserve d'énergie pour les végétaux et sont à ce titre stockés dans des tissus spécifiques à chaque plante. Deux voies sont donc distinguées : une utilisant les plantes saccharifères et une autre basée sur les plantes amylacées. (Riess, .2012) (Annexes n°4)

La figure n°15 est un exemple qui résume le procédé de production industrielle du bioéthanol à partir de la mélasse sucrière.

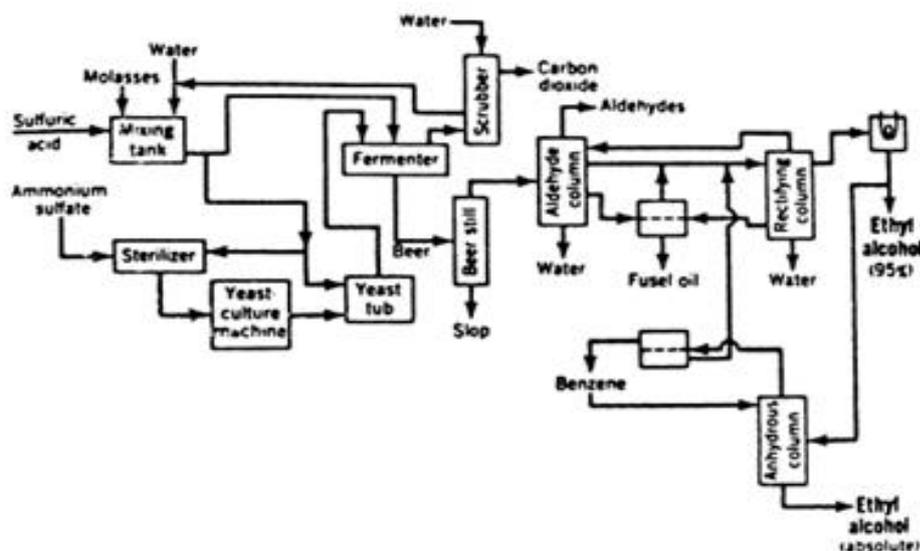


Figure N°15 : le procédé de production industrielle du bioéthanol à partir de la mélasse sucrière.

II.2.1. Les microorganismes utilisés pour la production du bioéthanol par voie fermentaire

L'espèce la plus utilisée au niveau industriel est la *Saccharomyces cerevisiae*, Elle transforme le glucose en éthanol. Actuellement, aucun autre micro-organisme n'atteint ses performances sur le glucose en conditions non stériles, à savoir un rendement de l'ordre de 0,47 g d'éthanol par g de glucose, une productivité supérieure ou égale à 5 g/l.h, et des concentrations finales en éthanol voisines de 10% en volume. (Ogier, 1999). Par ailleurs (Riess, 2012) a cité dans son manuscrit de thèse que les *Zymomonas mobilis* donnent un meilleur rendement en éthanol et une meilleure productivité, cependant, les *Zymomonas mobilis* sont plus sensibles à la contamination du milieu et la biomasse produite n'est plus utilisable en alimentation animale pour ces raisons le microorganisme le plus utilisé pour la fabrication de l'éthanol aujourd'hui est le *Saccharomyces cerevisiae*. Actuellement, le *Saccharomyces cerevisiae*, présente de nombreux atouts supplémentaires résultant de nombreuses années de sélection : résistance à l'éthanol, mise en œuvre industrielle aisée, etc. (Ogier, 1999).

Sur le marché on trouve plusieurs marques et formes de levures, les plus connues Saft-instant qui est une référence mondiale. Lesaffre qui est le premier intervenant sur le marché de la levure a mis au point différentes formes de levures pour répondre à toutes les attentes des boulangers selon leurs régions (climat) et leurs traditions parmi ces levures on

Partie Bibliographique

trouve: levures pressée ou fraîche, levure liquide, levure sèche active et levure sèche instantanée. (Farih,,2015).

II.2.2.Généralités sur les *Saccharomyces cerevisiae* :

Saccharomyces cerevisiae, le latin « saccharo » signifie doux ou sucre et « myces » désigne moisissure, c'est une cellule vivante microscopique unicellulaires et eucaryotes, c'est une espèce de levure de la famille des champignons. Se sont des levures dites de boulangerie.

Saccharomyce cerevisiae, a été découverte par le scientifique, chimiste et physicien de formation LOUIS PASTEUR en 1875.c'est un micro-organisme de forme variable selon l'espèce sphérique, ovoïde, en bouteille, triangulaire mais généralement ovales d'environ 6 à 10 microns et jusqu'à 50 microns se multiplient par bourgeonnement (annexe n°5). Le terme courant de levure désigne généralement le genre saccharomyces, levure de bière ou levure de boulangerie.(Farih,,2015).

II.2.3. Caractéristiques généraux des *Saccaromyces Sereviciae* :

Elles sont capable de dégrader les aliments qui se trouvent dans leurs milieux de culture grâce à une gamme très étendue d'enzymes d'hydrolyse telles que des lipases, protéases, saccharases, et lactases et d'effectuer presque toutes les synthèses dont elles ont besoin pour leur croissance. La cellule est constituée par: Figure n°16

- Une membrane cytoplasmique, protégée par la paroi cellulaire, assurant les échanges avec l'extérieur.
- Un cytoplasme, une sorte de gelée, constituant le substrat même de la vie de la cellule.
- Un noyau, qui contient les chromosomes (éléments qui portent les caractéristiques génétiques) réglant la transmission des caractères héréditaires et l'essentiel des réactions qui se produisent à l'intérieur de la cellule.
- Des vacuoles emmagasinant les substances de réserve diverses.
- Des mitochondries qui sont les véritables centrales énergétiques de la cellule lorsque celle-ci fonctionne en présence d'oxygène. Leur rôle est d'utiliser les sucres mis à la disposition de la levure pour produire de l'énergie et permettre ainsi à la cellule d'assurer sa croissance.
- *Des ribosomes* qui sont de petites structures (**ou organites**) présentes dans le cytoplasme des cellules. Ce sont eux qui assemblent les acides aminés pour former

les protéines. Ils suivent pour cela le plan de montage contenu dans l'ADN (**ARN messager**). (Farih ,.2015)

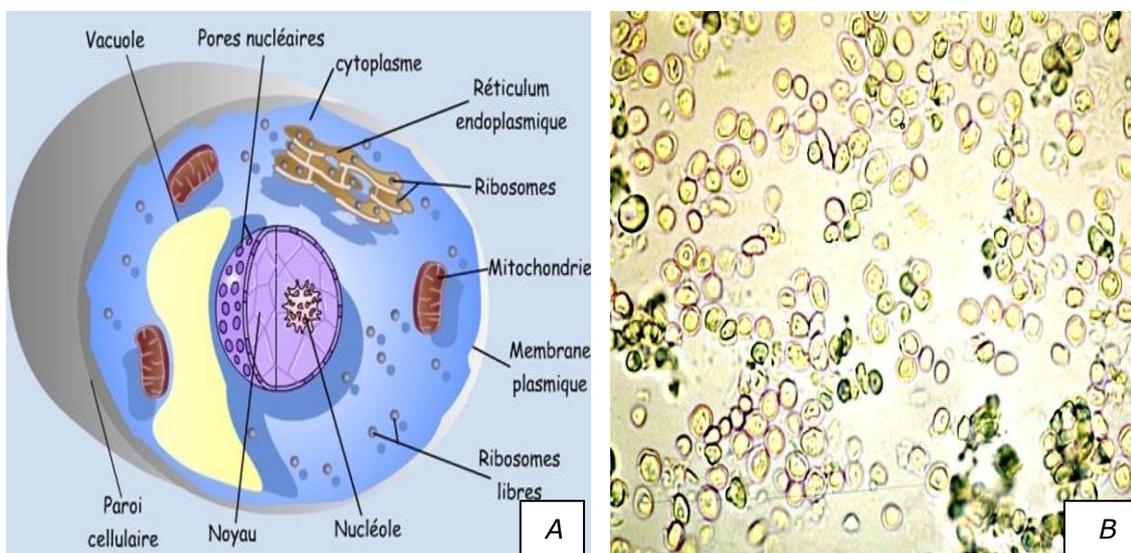


Figure N°16: *Saccharomyces cerevisiae*; A : Structure d'une cellule de levure de boulangerie ;

B : Image Microscopique des *Saccharomyces cerevisiae*

II.2.4. Métabolisme fermentaire des levures

La fermentation est une réaction biochimique, à localisation cytoplasmique, permettant la libération de l'énergie contenue dans un substrat organique par l'action d'enzymes microbiennes et qui aboutit à l'oxydation incomplète du substrat. Cette réaction ne fait pas intervenir la chaîne de transporteurs d'électrons. Elle se distingue de la respiration par son faible rendement énergétique et la diversité des produits d'oxydation. (Riess, .2012) Deux aspects sont impliqués dans la fermentation alcoolique:

- le transport du substrat à l'intérieur de la cellule ;
- les voies métaboliques impliquées, les levures suivent la voie de Meyerhof- Parmas (EMP) ou glycolyse pour le métabolisme des glucides.

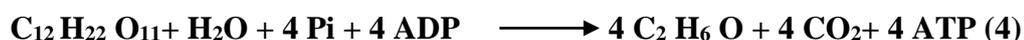
Le transport du substrat nécessite une hydrolyse préalable par des exoenzymes pour générer des hexoses capables de traverser la paroi et la membrane biologique. Le transport des hexoses du milieu extracellulaire vers le cytosol implique obligatoirement une phosphorylation (activation du substrat). Cette phosphorylation peut être réalisée par des perméases ou par des systèmes enzymatiques plus complexes. Ainsi, dans le cas d'un mélange de substrats fermentescibles, on peut assister à des

Partie Bibliographique

répressions de certaines enzymes (la non-phosphorylation du substrat interdit son transport dans la cellule). Il existe de nombreux exemples de la répression du transport du maltose ou du galactose par le glucose. La glycolyse (figure n° :17) est le point de départ du métabolisme de la levure. Elle débute avec la phosphorylation du substrat et s'achève au stade du pyruvate. Cette figure montre les étapes successives de la glycolyse. La production d'ATP reste très limitée avec un bilan positif de 2 moles produites par hexose. La glycolyse génère des électrons lors de la déshydrogénation des trioses phosphate. Ils sont pris en charge par le coenzyme NAD^+ . Le coenzyme est donc réduit et se trouve sous la forme NADH_2 . Pour que le cycle de la glycolyse puisse continuer, la réoxydation du coenzyme est indispensable, c'est pourquoi la glycolyse est couplée à la fermentation ou à la fermentation oxydative. Les électrons sont échangés entre le coenzyme et un accepteur d'électrons (l'éthanal en fermentation et l'oxygène dans le cas de fermentation oxydative). (Riess, .2012)

En anaérobiose (absence d'oxygène), *Saccharomyces cerevisiae* est privée de son accepteur final d'électron qui est l'oxygène. Les coenzymes d'oxydoréduction, comme le $\text{NADH}+\text{H}^+$, ne peuvent donc plus être réoxydés. La cellule doit donc utiliser un autre accepteur final d'électron qu'elle doit fabriquer à partir de son substrat. Pour *Saccharomyces cerevisiae* il s'agit principalement de l'acétaldéhyde. La réduction de l'acétaldéhyde en éthanol permet ainsi de maintenir l'équilibre rédox en réoxydant le $\text{NADH}+\text{H}^+$ produit au cours de la glycolyse.(Riess, J.2012)

L'équation bilan de la réaction de fermentation du glucose par *Saccharomyces cerevisiae* est :



Saccharose + Eau + Phosphate inorganique + Adénosine diphosphate \longrightarrow Ethanol + Dioxyde de carbone + énergie

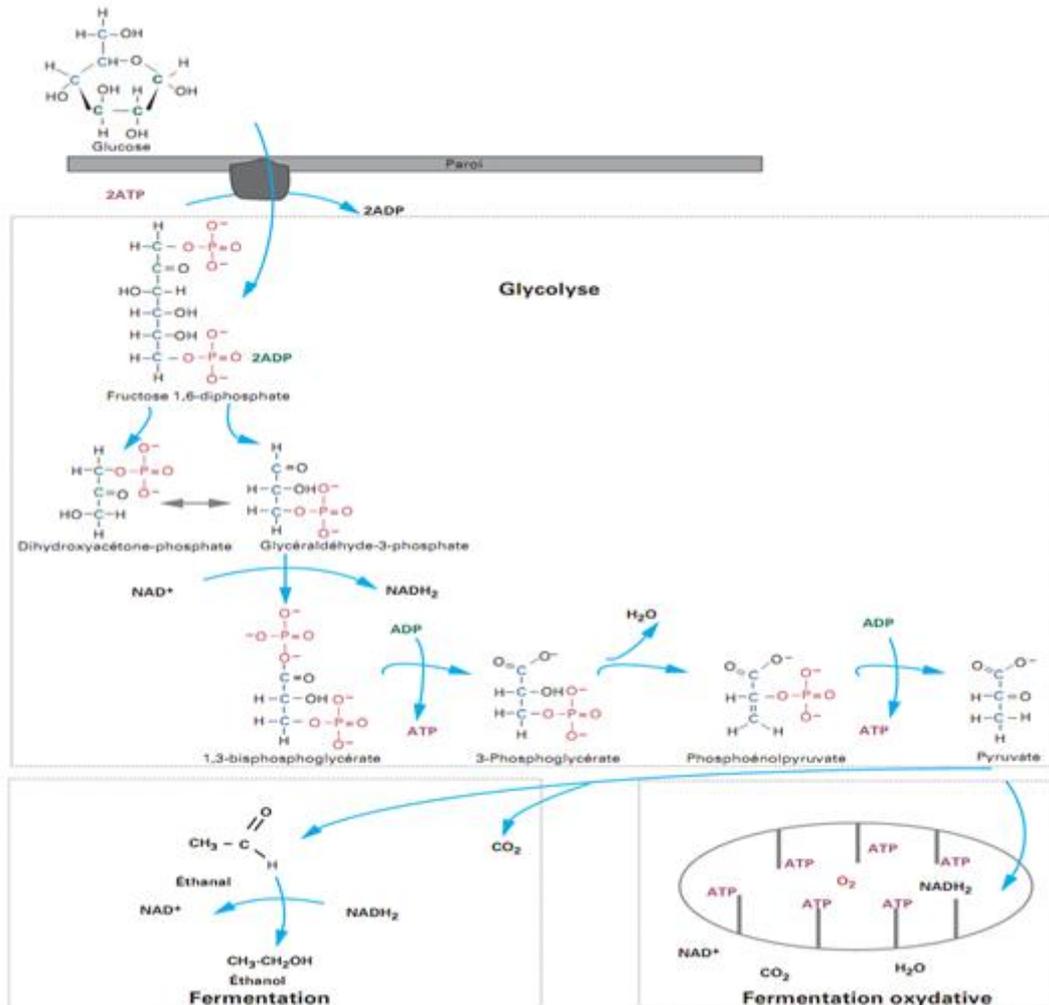


Figure N°17: métabolisme des levures

Cependant l'utilisation du substrat est un phénomène plus complexe car elle contribue à trois fonctions dont les proportions varient en fonctions de nombreux paramètres physico-chimiques et la composition du milieu de culture:

- La formation de biomasse
- La formation de produits. L'éthanol n'est pas le seul produit de fermentation, on trouve, entre autre l'acétate, le succinate, les alcools supérieurs et le glycérol
- La maintenance, c'est-à-dire la part du métabolisme destiné au simple maintien en vie des cellules (métabolisme basal) (Riess.,2012)

II.3.Paramètres influençant le métabolisme fermentaires des levures.

II.3.1. La composition du milieu

Les besoins nutritifs de la levure ne se limitent pas à une source carbonée, mais comprennent aussi une source d'azote, de phosphore, de soufre, les sels minéraux, les

Partie Bibliographique

vitamines dont la cellule est constituée et illustrés dans les tableau 4 et 5 Ceci permet d'assurer la synthèse des composants cellulaires, mais aussi le fonctionnement des enzymes et donc d'influencer la productivité de la levure ainsi que sa tolérance au stress dû à l'éthanol ou au substrat (Alfenore et al 2002 ; Dragone et al., 2004).

Tableau N°4: Composition approximative de *Saccharomyces cerevisiae* en macroéléments (Ingledeew, 1999)

	Oses	Protéine s	Cendre s	Acides nucléique s	Lipide s	Azot e	Phosphor e	Souf r
Composition cellulaire (g.kg ⁻¹ levure sèche)	180-440	380-590	45-75	52-95	40-50	30-90	10-19	3-9

Tableau N°5: Composition approximative de *Saccharomyces cerevisiae* en ions métalliques, besoins et limites dans le milieu (Ingledeew, 1999) (Heggart et al, 1999) (Jones et Greenfield, 1984).

	Composition cellulaire (g.kg ⁻¹ levure sèche)	Besoin dans le milieu (mg.L ⁻¹)	Concentration inhibitrice dans le milieu (mg.L ⁻¹)
Potassium	20-21	80 - 7900	390
Magnésium	1,3-1,65	39 -144	24000
Calcium	0,6-0,75	180 -1500	1000
Sodium	0,12-0,3		
Zinc	0,17-0,2	0,3 - 3	65
Fer	0,02-0,03	0,001- 0,8	840
Manganèse	0,008	0,06 - 0,12	55
Cuivre	0,008	0,1 - 0,6	0,6

Tous les ions métalliques présents dans le tableau n°5 sont indispensables pour une croissance optimale de la levure. Cependant la présence en excès de ces ions peut entraîner des diminutions de rendements, de viabilité ou encore limiter la croissance de la levure. Le sodium n'a pas de rôle métabolique apparent pour la levure mais celui-ci a un impact sur la pression osmotique et sur le gradient électrochimique (Heggart et al. 1999), sa présence doit donc être limitée.

II.3.2. Les gaz dissous

II.3.2.1. L'oxygène

La présence d'oxygène dans le milieu de culture des levures est à l'origine de l'**effet Pasteur**. Cet effet correspond à une inhibition de la fermentation, et donc de la production d'éthanol, par la respiration. L'effet est d'autant moins marqué que la levure est sensible à l'effet Crabtree. Ainsi chez *Saccharomyces cerevisiae* l'effet Pasteur est presque inexistant (Poilpré, 2002).

II.3.2.2. Le dioxyde de carbone

Au cours de la fermentation alcoolique du dioxyde de carbone est produit celui-ci constitue un des produits majeurs de la fermentation (équ. n°4). La viabilité cellulaire diminue au fur et à mesure que la pression de CO₂ dissous augmente ce qui peut entraîner une inhibition complète des levures (Saez, 1986).

II.3.3. La température

La température agit sur les vitesses de croissances et la production de métabolites. Plus la température est élevée plus la croissance sera rapide et ce jusqu'à atteindre la température optimale, au-delà de laquelle la vitesse de croissance diminuera. Le choix de la température est donc primordial. La température optimale de croissance pour *Saccharomyces cerevisiae* est comprise entre de 30 et 33°C (Aldiguier et al., 2004).

II.3.4. L'acidité

L'acidité sert essentiellement à limiter le développement bactérien ce qui est très important dans les milieux non stériles comme les produits sucriers. Une acidité comprise entre 1,5 et 2,5 g.L⁻¹ serait un compromis entre l'effet bactériostatique et le développement optimal de la levure (De Miniac, 1988).

II.3.5. Agitation mécanique

Ce type d'agitation est le plus couramment utilisé. L'agitation est assurée par un système de pales tournant grâce à un moteur. Ce moteur peut être situé au sommet du réacteur ou à sa base. L'agitation peut être renforcée par des contrepales. Les réacteurs ont une géométrie établie selon des règles permettant une efficacité optimale de l'agitation. (Riess, 2012)

II.3.6. L'effet Crabtree

Saccharomyces cereviaciae possèdent un métabolisme très particulier, en effet en absence d'oxygène ont un métabolisme fermentaire et en présence d'oxygène un métabolisme oxydatif (**Riess, .2012**)

Cependant cette levure en présence de concentrations élevées en glucose possède un métabolisme oxydo-réductif et quelque soit la quantité d'oxygène dans le milieu. Ce changement métabolique est appelé effet crabtree (**Riess, .2012**)

L'effet Crabtree décrit les phénomènes par lesquels un micro-organisme produit de l'éthanol en aérobiose lorsque le milieu présente une forte concentration en substrat. Enfin, le passage du métabolisme respiratoire au métabolisme fermentaire pourrait être dû à la limitation des capacités respiratoires des cellules. Pour *Saccharomyces cerevisiae*, le taux de consommation maximum en oxygène est de $5,5 \text{ mmol.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (**Riess, .2012**)

II.4. Différents procédés de fermentation

Le bioéthanol est produit principalement par trois types de fermentation, discontinue (batch), semicontinue (fed-batch) et continue (**Vitolo, . 1996**)

II.4.1. Le mode discontinu (ou batch)

Dans ce mode de fonctionnement la totalité des éléments nutritifs nécessaires à la croissance biologique est introduite lors du démarrage de la réaction. Aucun apport ni prélèvement (excepté bien sûr pour quelques mesures hors lignes éventuellement) n'est réalisé par la suite et la réaction se déroule à volume constant (**Manyri, 2005**). Les seules actions possibles de l'opérateur ne concernent que les variables d'environnement (pH, température, vitesse d'agitation, aération,...).

II.4.2. Le mode semi-continu (ou fedbatch)

A partir d'un volume initial préalablementensemencé, le réacteur est alimenté par un débit augmentant de façon exponentielle, nécessitant un contrôle en boucle fermée. C'est d'ailleurs ce dernier point qui a fortement limité l'utilisation du fedbatch en milieu industriel (**Grisales, 2007**).

II.4.3. Le mode continu

Caractérisé par un volume réactionnel constant, il est soumis à un soutirage de milieu réactionnel égal au flux d'alimentation en matière nutritive (en employant une régulation de niveau) (**Demeyer et al. 1982**).

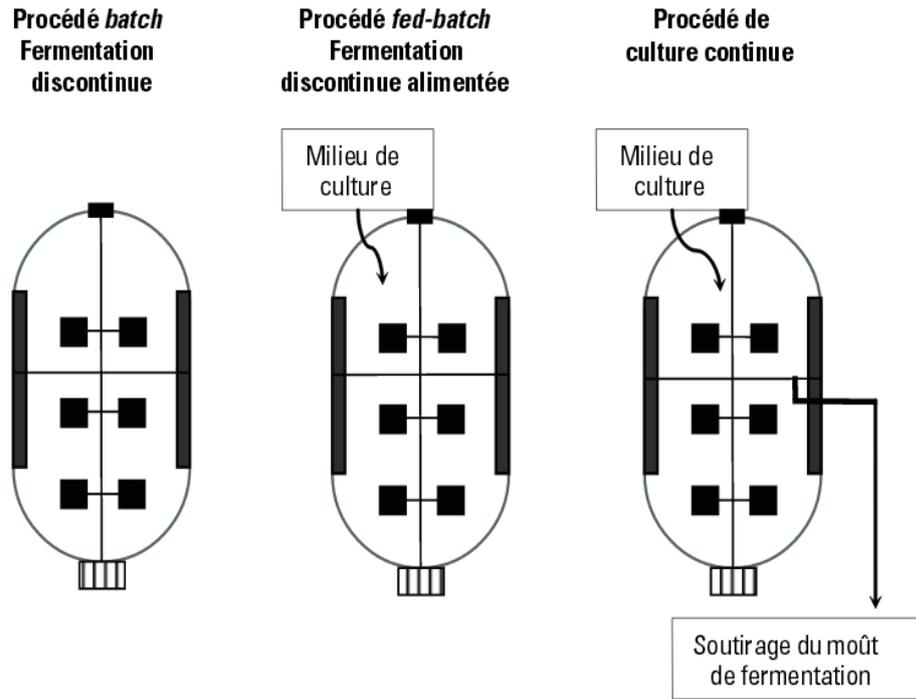


Figure N° 18: Les trois types du procédé de fermentation (Queinnec, 2000)

Chapitre III : matériel et méthode

III.1. Présentation du processus de farinage de sucre

Nous avons effectué les analyses physicochimiques des produits issus à chaque étape de process, (figure n°19)

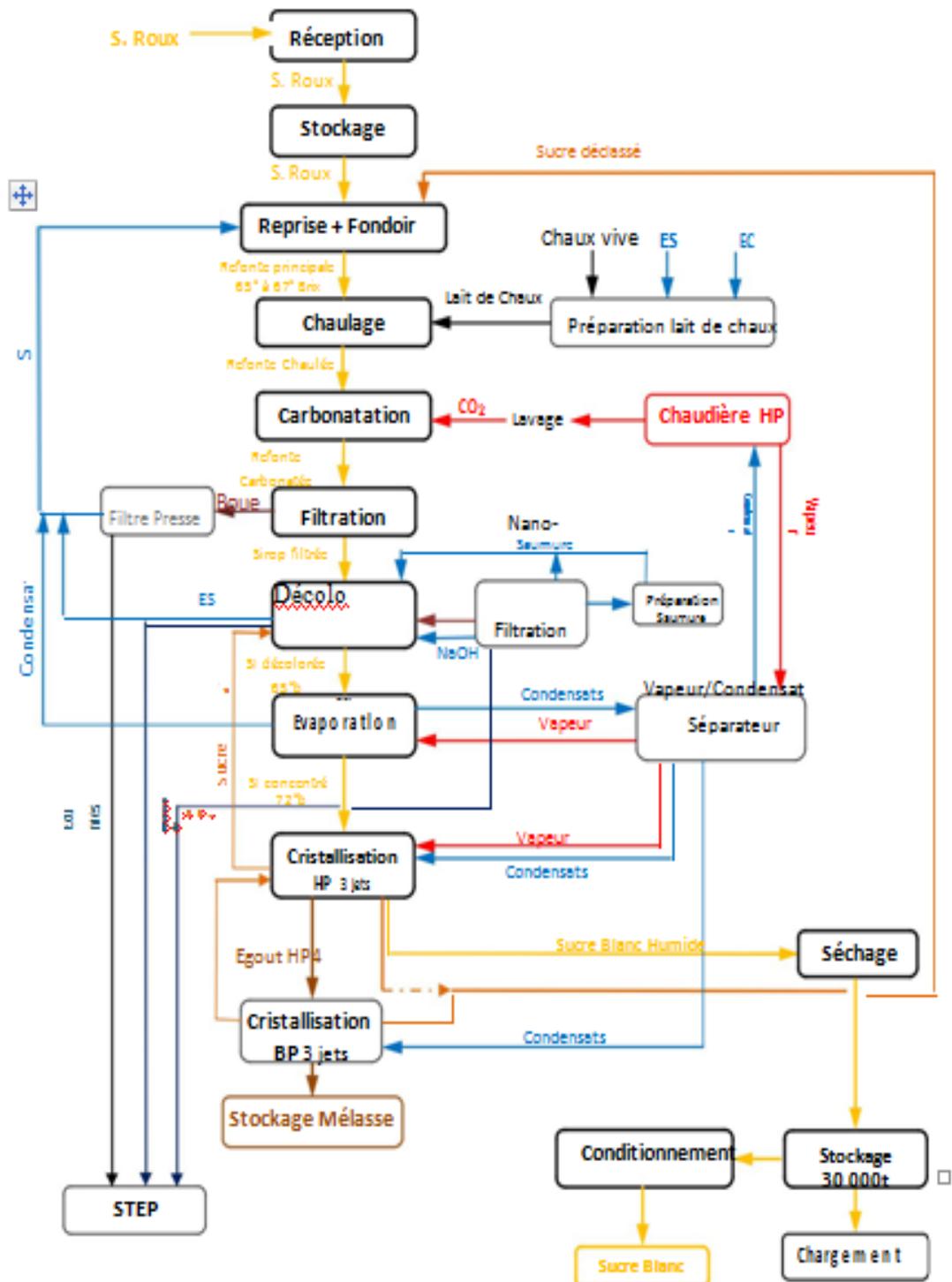


Figure N° 19 :schéma du process de la raffinerie GRDLABELLE

III.2. Analyses physico-chimique de la matière première (sucre roux) :

L'analyse de la matière première permet de contrôler sa pureté et de suivre les transformations qu'elle subit durant le processus de raffinage du sucre blanc, ce dernier doit être produit avec un rendement maximum.

Toutes les analyses de la matière première ont été réalisées à l'unité de raffinage du sucre LA GRANDE RAFFINERIE DAHMANI (GRD) LA BELLE selon les méthodes: ICUMSA, PE, COCA COLA ...

III.2.1. Détermination de l'humidité du sucre roux (Méthode ICUMSA GS2/1/3/9-15 (2007)):

Le Principe de cette méthode est basé sur le séchage d'une prise d'essai de 20 à 25 g de sucre dans une étuve à pression atmosphérique (105°C) pendant 3 heures, suivi par des conditions standardisées pour le refroidissement après étuvage. Seule l'humidité libre est mesurée par cette technique. La saisie des données dans un PCLAB permet le calcul automatique de l'humidité:

$$\text{Humidité relative (HR) \%} = (S_2 - S_3) / (S_2 - S_1) * 100$$

- S_1 : masse de la capsule vide (g).
- S_2 : masse de la capsule + sucre roux avant étuvage (g).
- S_3 : masse de la capsule + sucre roux après étuvage (g).

III.2.2. Détermination des cendres conductimétriques du sucre roux (Méthode ICUMSA N° GS1/3/4/7/8-13 (1994)).

Cette méthode est utilisée pour déterminer la concentration des sels ionisés solubles présents dans les échantillons ayant une conductivité allant jusqu'à 500 $\mu\text{s/cm}$ et de concentration allant jusqu'à 5 g/ 100 ml.

Pour cette mesure une solution sucrée est préparée en dissolvant 5 g \pm 0,05 de sucre roux dans 60 ml d'eau purifiée par agitation mécanique, la solution est ajustée par l'eau purifiée qsp 100ml. Le brix de la solution obtenue est mesurée à l'aide 'un refractomètre. La conductivité de la solution C_S est mesurée en plongeant l'électrode du conductimètre dans la solution et dans l'eau purifiée C_E simultanément, (l'électrode doit être rincée après chaque mesure par l'eau déminée).

$$C = C_S - C_E$$

Matériel et Méthode

Alors on déduit la conductivité des cendres:

$$\text{Conductivité des cendres en \%} = (16.2 + 0.36 * D) * 10^{-4} * C * f$$

- **D** : la concentration de la matière sèche soluble de la solution testée en g/ 100 ml:
 $D = S * (Bp/100)$, tel que Bp est le degré Brix poids et S la masse de l'échantillon dans 100 ml. (05 g).
- **F**: le facteur de dilution de la solution par rapport 5 g/ 100 ml, $f = 5/S$.



Figure N°20: Image de la mesure conductimétrique

III.2.3. Détermination du pH de la solution sucrée (sucre roux) (ICUMSA méthode GS1/2/3/4/7/8/9-23 (2009)) :

Cette méthode convient pour la détermination du pH dans tous les produits de l'usine de raffinerie du sucre.

Le Principe de la méthode est basé sur la mesure potentiométrique du pH. Les électrodes sont normalisées avec des solutions tampon, rincées à l'eau distillée et immergées dans la solution de sucre. La lecture se fait après quelque minute quand le potentiel d'équilibre entre les électrodes est jugé avoir été atteint. Le pH d'une solution sucrée d'une concentration de $50 \pm 0.05g$ est mesuré à $20^{\circ}C$.



Figure N° 21: Image du pH-mètre

III.2.4. Détermination de la coloration du sucre roux (ICUMSA méthode GS1/3-7 (2011)):

Cette méthode est utilisée pour déterminer la coloration du sucre roux en solution.

Matériel et Méthode

Une solution de sucre à $30 \pm 0.05\%$ est préparée dans l'eau purifiée et filtrée à travers une membrane filtrante de $0.45 \mu\text{m}$ pour supprimer les substances responsables de la turbidité, le pH de la solution sucrée est ajusté à 07 par NaOH 0,1 N puis dégazée dans un bain à ultrason. L'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 420 nm à l'aide d'un spectrophotomètre et la couleur de la solution est calculée en utilisant PCLAB:

Coloration en ICUSMA. = $1000 * as$

Coloration en ICUMSA = $1000 \times [(100 \times DO) / (b \times l \times d)] = 1000 \times [(100 \times DO) / (30 \times 1 \times 1.126)]$

- b = degré Brix (30° Brix).
- l = longueur de la cuve (1 cm).
- d = densité (1.126)

Coloration en ICUMSA = $2960.3 * DO$.

III.2.5. Détermination du polarisation dans le sucre roux (sans défécation (ICUMSA méthode GS1/3-7 (2011))

Cette méthode permet de Mesurer la rotation optique de la solution normal de sucre brut. Cette mesure est aussi la base de contrats d'achat de sucre.

La méthode utilisée est applicable à tous les sucres bruts, des sucres blancs et sucres spéciaux nécessitant des éclaircissements.

La rotation optique est la somme algébrique des effets prédominants de la teneur en saccharose de l'échantillon, modifiée par la présence d'autres constituants optiquement actifs.

Cette méthode est une analyse physique impliquant trois étapes de base

- Préparation d'une solution normale de sucre brut dans l'eau ($52\text{g} \pm 0,05/200\text{ml}$)
- Clarification de la solution par filtration.
- Détermination de la polarisation par la mesure de la rotation optique de la solution filtrée.

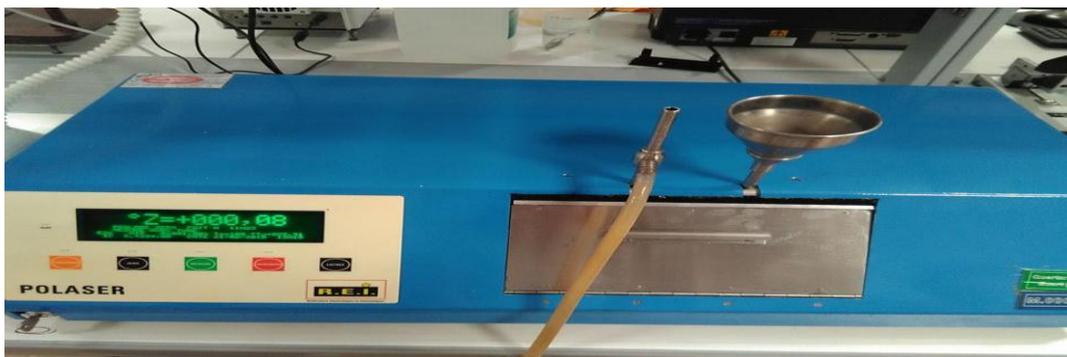


Figure N° 22: image de polarimètre

III.2.6. Détermination de la teneur en amidon dans le sucre roux (méthode de GRD LA BELLE):

La méthode utilisée est basée sur la réaction colorée de l'amidon par une solution de lugol (l'iode ioduré) due à la fixation du I_2 sur les chaînes d'amylose et d'amylopectine constituant l'amidon. Le lugol colore intensément en bleu l'amylose et en rose clair l'amylopectine, l'intensité de la couleur peut être mesurée à 700 nm pour l'amylose.

On prépare deux solutions de sucre roux (solution blanc A et solution teste B) par dissolution de 7,2 g de sucre roux dans 14 ml d'eau distillée; on ajoute 30ml de $CaCl_2/CH_3COOH$ dans chacune des solutions puis on chauffe à 95° C pendant 15 min, on refroidie et on ajoute 30 ml d'acide acétique à 0,03mol/L et 10 ml de la solution test de lugol (KIO_3 et KI). Après avoir ajusté les deux solutions à 100ml par l'eau distillée, on lie l'absorbance à 700 nm dans un spectrophotomètre. La différence entre la densité optique de la solution A et la solution B donne une estimation de la teneur en amidon dans le sucre.

III.3. Analyses physico-chimiques du produit fini (sucre blanc) :

Les analyses réalisées sur le sucre Blanc comme la teneur en humidité, pH et la teneur en amidon) Sont celles déjà décrites dans les paragraphes: III.1.1 ; III.1.3 et III.1.6 respectivement.

III.3.1. Détermination des cendres conductimétriques : La méthode appliquée pour le dosage des cendres conductimétriques dans le sucre blanc est celle appliquée aux sucres spéciaux et à faible conductivité, elle consiste à mesurer la conductivité d'une solution à 28° brix (on pèse 31,3 g de sucre dans 100 ml d'eau purifiée). Les cendres conductimétriques sont calculées par PCLAB d'après les formules suivantes.

$$C_{28} \text{ en ICUMSA} = C_S - 0,35 C_E$$

Matériel et Méthode

- C_S : conductivité de la solution sucrée.
- C_E : conductivité de l'eau purifiée.

$$\text{Nombre de points Européens} = C_{28} \text{ en ICUMSA} \times 0,333$$

$$\text{Cendre en \%} = C_{28} \text{ en ICUMSA} \times 0.0006$$

(Incertitude sur méthode (2 écart type) Cendres = résultat ± 0.5 Point européen)

III.3.2. La coloration du sucre Blanc (ICUMSA méthode GS2/3-10 (2011*), ICUMSA méthode GS2/3-18 (2007)):

Cette méthode est utilisée pour déterminer la coloration du sucre blanc en solution. Le sucre ne dépasse pas 50 IU. Cette méthode peut être appliquée à tous les sucres blancs cristallisé ou en poudre et les sirops très purs.

Pour cette détermination, le sucre blanc est dissous dans de l'eau déminée pour donner une solution de sucre à 50° Brix. L'absorbance et la couleur de la solution sont déterminées. La solution est ensuite filtrée à travers un filtre à membrane pour supprimer la turbidité. L'absorbance de la solution filtrée est mesurée à une longueur d'onde de 420 nm et la couleur de la solution est calculée. La différence entre les deux mesures de couleur constitue la turbidité.

$$\text{Coloration en ICUSMA.} = 1000 * a_s$$

$$\text{Coloration en ICUMSA} = 1000 \times \left[\frac{(100 \times \text{DO})}{(b \times l \times d)} \right] = 1000 \times \left[\frac{(100 \times \text{DO})}{(50 \times 10 \times 1.2285)} \right]$$

- b = Brix 50°Brix.
- l = longueur de la cuve 10 cm.
- d = densité 1.2285

$$\text{Coloration en ICUMSA} = 162.8 * \text{DO.}$$

- On attribue 1 point européens pour 7,5 Unités I.C.U.S.M.A.
Nombre de points européens = Coloration en ICUMSA / 7.5

● Détermination de la turbidité

Le calcul de la turbidité se fait automatiquement dans le PCLAB.

$$\text{Le trouble} = C_{NF} - C_F$$

- C_{NF} : coloration non filtrée en ICUMSA.
- C_F : coloration filtrée en ICUMSA.

(Incertitude sur méthode (02 écart type) Trouble = résultat ± 0.4 Point européen)

III.3.3. Détermination de la filtrabilité/colmatage du sucre Blanc (SNFS chapitre 2: méthode N°17 (2006))

Cette méthode permet de déterminer le pouvoir colmatant d'une solution sucrée. La méthode peut être appliquée à tous les sucres Blancs cristallisés.

Une solution de sucre 500g pour 500g d'eau filtrée, le tout est filtré à travers une membrane filtrante dont le diamètre des pores est $0.45\mu\text{m}$. La vitesse de filtration diminue avec le temps et le colmatage de la membrane. La comparaison entre le volume filtré dans les premières minutes et celui qui est filtré en fin d'opération indique le pouvoir colmatant de la solution de sucre considérée.

Coefficient de filtrabilité $CF_{.45} = V_1$

$$\text{Colmatage} = V_1 / (V_2 - V_1)$$

- V_1 : volume après 10 min.
- V_2 : volume après 20 min.

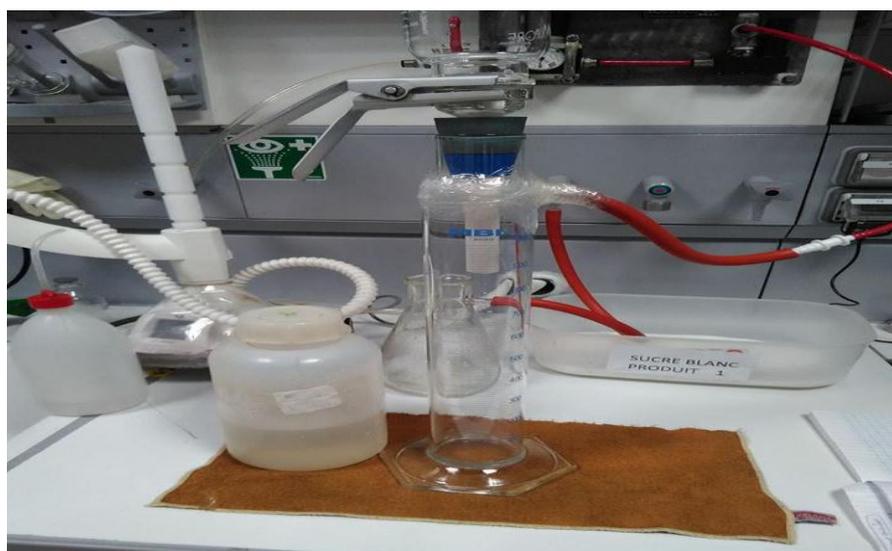


Figure N° 23: image de l'instrument de détermination la filtrabilité/colmatage du sucre Blanc

III.3.4. Détermination de la matière insoluble du sucre blanc ICUMSA méthode GS2/3/9-19 (2007):

Cette méthode est utilisée pour déterminer la quantité des matières insolubles dans l'eau dans les sucres blancs. La méthode est applicable à tous les sucres blancs cristallisés, les sucres pulvérulents ne contenant pas d'additifs et les sucres blancs de plantation.

Le sucre à tester est dissous dans de l'eau chaude et filtrée à travers une membrane avec une taille de pore de $0.45\mu\text{m}$. La membrane et les matières insolubles sont soigneusement

Matériel et Méthode

lavées, séchées et pesées. On calcule la teneur en insoluble à partir de l'augmentation de masse de la membrane.

$$\text{Insoluble (mg/kg) (M)} = (m_2 - m_1 / m_0) \times 10^6$$

- m_0 = la masse en gramme de la prise d'essai pour le test (500g de sucre blanc).
- m_1 = la masse en grammes de la membrane + capsule.
- m_2 = la masse en grammes de la membrane + insoluble +capsule.

Le calcul de la matière insoluble se fait automatiquement après la saisie des données sur le PCLAB

$$\text{Insoluble (mg/kg)} = M \times 2$$

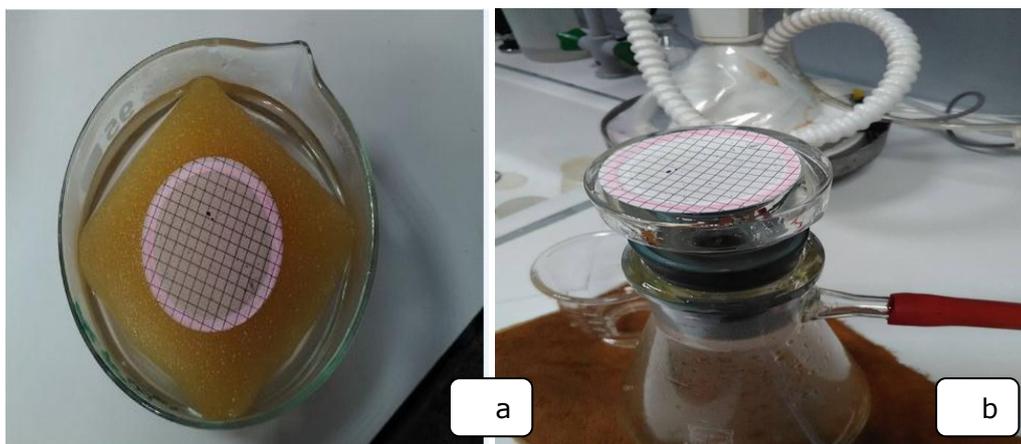


Figure N°24 : images de la détermination des insolubles dans le sucre blanc: (a) c'est la filtration des insolubles; (b) désucrage de la membrane.

III.3.5. Détermination des points Blanc et les points noirs du sucre blanc (Méthode SNFS chapitre 2: n° 17 (2006)):

Cette méthode permet de quantifier la propreté d'un sucre dans une échelle de référence électronique.

Les particules insolubles d'une solution de sucre sont retenues par filtration sur membranes. La lecture automatisée par le système de lecture automatique de la propreté du sucre de ces membranes permet de noter le sucre dans une échelle de 0 à 5 par pas de 0.5 point.

III.3.6. Test de floc après acidification Sucre Blanc (Méthode de GRD LA BELLE)

Cette méthode est destinée à détecter des floccs ayants pour origine les sucres de canne et de betterave contenant plus de 1.3 mg/kg de saponine.

La méthode consiste à examiner le floc éventuellement formé dans une solution de sucre acidifié par l'acide phosphorique et conservée 10 jours à température ambiante, en ajoutant les benzoates de sodium à 0,01%. L'observation des floccs est réalisée par

Matériel et Méthode

mirage de la solution face à un rayon lumineux intense, en étudiant surtout le haut, le milieu et le fond de la solution. Les résultats sont exprimés par quantification des floccs près 10 jours :

- N: Pas de floc
- S : Floc très légère.
- M : Floc très légère pouvant aisément être vus à la source lumineuse
- H : floc important pouvant être vus sans source lumineuse.

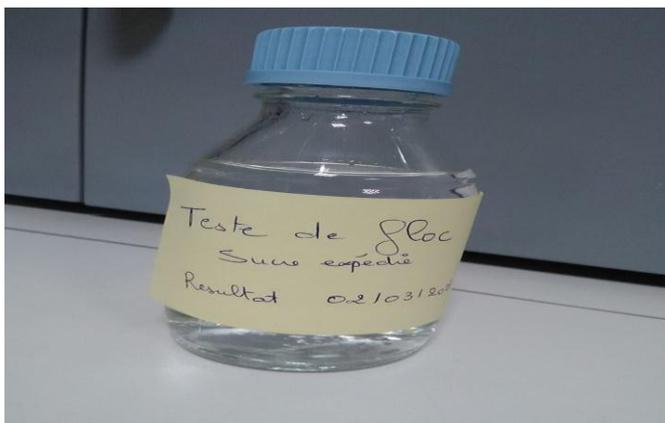


Figure N° 25: images de la détermination de floc dans le sucre

III.3.7. Détermination de l'aspect visuel du sucre Blanc (ICUMSA méthode GS2-13 (2011*)):

Cette méthode détermine le niveau visuel des sucres blancs, elle s'applique pour les sucres blancs cristallisés et les sucres en poudre. Cette méthode est appliquée en utilisant un saccharo-flex par mesure du facteur de réflectance à 495 nm et 620 nm; le rapport est indiqué en termes de nombre de type de couleur. Les résultats sont saisis dans PCLAB.

$$\text{ICUMSA} = \frac{A_1 + A_2}{2}$$

A_1 : est le résultat lu directement et A_2 est le résultat lu après rotation de la coupelle de mesure d'un angle de 180 °.

$$\text{Nombre de points Européens} = \text{ICUMSA} \times 2$$

- Incertitude sur méthode (2 écart type) Aspect = résultat \pm 1 point européen.



Figure N°26 : images de la détermination de l'aspect visuel du sucre Blanc

III.3.8. Tests Odeur/gout/apparence/odeur après acidification sucre Blanc: (Méthode COCA-COLA SM-PR-420 version 31/10/2003. Méthode COCA-COLA SM-PR-310version 31/08/2003.)

Cette méthode est destinée à évaluer le goût et l'apparence des sucres. Certains composés odorants contenus dans le sucre ne se développent qu'en milieu acide. Ce test permet de déterminer la présence ou non de ces composés dans le sucre pour éviter des problèmes d'odeurs sur les boissons.

- **Gout du sucre blanc** : Le gout est testé par notation tout faux gout d'une solution sucrée à 50° Brix additionnée d'eau de Volvic.
- **Apparence sucre blanc** : Ce test se fait par inspection visuelle du sucre qui doit présenter des cristaux blancs sans corps étrangers.
- **Odeur et odeur après acidification** : Ce test est réalisé par détection olfactif de la présence ou non des odeurs dans trois solutions : solution sèche (le sucre blanc dans un verre fermé), solution sucrée non acide et solution sucrée pH 1,5 acidifiée par l'acide phosphorique (75%) ; les solutions sont incubées à 30°C, puis les odeurs sont senties toutes les 10 min.

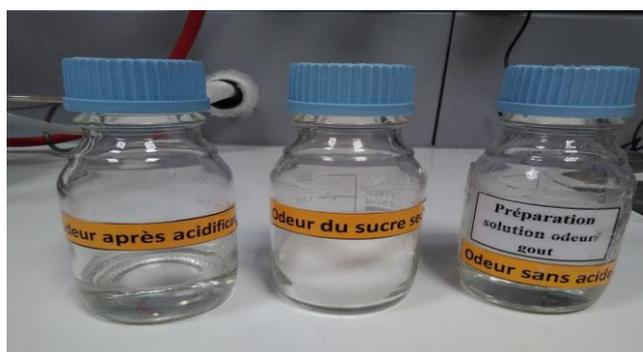


Figure N°27: images de la détermination d'odeur/gout/apparence/odeur après acidification sucre Blanc

III.3.9. Granulométrie du sucre blanc (ICUMSA méthode GS2/9-37 (2007)):

La granulométrie se caractérise par l'ouverture moyenne (O.M.) et le coefficient de variation (C.V.).

1. L'O.M. : définit la dimension moyenne des cristaux. (L'ouverture qui retiendrait 50%

de la masse de l'échantillon)

2. Le C.V.: précise la dispersion des dimensions autour de cette valeur moyenne (indice de dispersion).

La méthode utilisée détermine la distribution des tailles de particules de sucres blancs, elle s'applique à tous les sucres blancs granuleux et sucres blancs de plantation.

Un ensemble de tamis de tissus approprié est assemblé. Un échantillon pesé est transféré sur le tamis supérieur. L'échantillon est séparé en fractions de tailles en secouant l'ensemble des tamis. Le poids de chaque fraction de taille est déterminé et exprimé en tant que pourcentage de l'échantillon.



Figure N°28 : images de la détermination Granulométrie du sucre blanc

La granulométrie du sucre roux et le sucre blanc (expédié et destiné pour Coca Cola) a été aussi déterminée à l'aide d'un granulometre Type *MASTERSIZER 2000* ; par diffraction laser; un faisceau laser passe à travers un échantillon de particules dispersées et l'intensité de la lumière diffusée est mesurée en fonction de l'angle. Les grosses particules diffractent de la lumière aux petits angles et les petites particules diffractent de faibles intensités aux grands angles. Les intensités diffractées sont ensuite analysées pour calculer la taille des particules en utilisant la théorie de diffusion de Mie. La taille des particules représente le diamètre de la sphère équivalente ayant le même volume que la particule. Cette analyse a été réalisée à l'unité de recherche de l'université de Boumerdes.



Figure N°29 : images de granulometre Type MASTERSIZER 2000

III.3.10. Contrôle microbiologique de sucre par filtration sur membranes

Cette analyse est réalisée dans le laboratoire de microbiologie de GRD LABELLE dans le but de déterminer des levures, moisissure et les germes mésophyles présents dans le produit fini.

Les solutions à tester contenant 10g de sucre sont filtrées à travers des membranes stériles dont la taille des pores est connue. Les microorganismes sont retenus à la surface, puis transférées sur le milieu nutritif sélectif dans des boîtes de pétri, ces dernières sont incubées à la température optimale de croissance des microorganismes recherchés.

Les microorganismes sont détectés comme des unités formant des colonies.

Le calcul du nombre N de micro-organismes par 10 g de produit est obtenu à l'aide de l'équation suivante

$$N = \frac{\sum c}{n} \text{ UFC/10g}$$

Ou : $\sum C$: somme des colonies comptées sur les boîtes retenues.

n : nombre des boîtes de Pétriensemencées



Figure N°30 : images du contrôle microbiologique.

III.4. Analyses physico-chimiques de l'eau de processus

Afin de déterminer la qualité des eaux de processus une série d'analyse a été effectuée dans le laboratoire de GRD LA BELLE telle que : TH, PH, TA et le TAC.

III.4.1. Titre hydrométrique (TH) :

Il est réalisé par titrage du calcium et du magnésium avec une solution du sel dissodique d'acide éthylène diamine tétra acétique à un PH=10 en présence du noir eriochrome T (N.E.T). Lors du titrage, l'EDTA réagit tout d'abord avec les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} libres en solution. Au point d'équivalence les ions combinés avec l'indicateur, ce qui provoque un changement de la couleur du bordeaux au bleu. Le TH est exprimé en degré Français ($^{\circ}\text{F}$).

$$\text{TH} = V_1 \times 10 \text{ } ^{\circ}\text{F}$$

V_1 : est le volume d'EDTA dépensé pour le titrage.

III.4.2. Titre alcalimétrique simple (TA) :

Il nous renseigne sur la teneur des hydroxydes alcalin et les carbonates (OH^- , CO_3^{2-}) présent dans l'eau.

$$\text{TA} = [\text{OH}^-] + 1/2 [\text{CO}_3^{2-}]$$

$$\text{TA} = V_2 * 10 \text{ } ^{\circ}\text{F}$$

V_2 est le volume de HCl dépensé pour le titrage.

III.4.3. Titre alcalimétrique complexe (TAC) :

La détermination de TAC se fait après celle du TA pour la même prise d'échantillon. On ajoute quelques gouttes de Méthylorange puis on titre par HCL à 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une coloration jaune ou jaune orangé. On note le volume V_3 qui correspond à la chute de la burette.

$$\text{TAC} = V_3 \times 10 \text{ } ^{\circ}\text{F}$$

III.5. Analyse des écumes de filtre presse:

Les analyses des écumes ont été effectués au niveau du laboratoire de GRD LA BELLE à fin de quantifier les pertes en sucre.

III.5.1. Détermination de la matière sèche des écumes:

La matière sèche est déterminée sur une prise d'essai de 5g qui est séchée à 65 °C dans un appareil à infrarouge.



Figure N°31: images d'appareil à infrarouge.

III.5.2. Détermination de polarisation des écumes:

La polarisation est déterminée sur 67 g d'écumes diluées dans un dispositif de proportion.

III.6. Analyses physico-chimiques de la mélasse :

Les analyses physico chimiques de la mélasse permettent de déterminer sa pureté et ces potentiels de valorisation. Une série d'analyses qui ont été effectuées tel que: le dosage de l'amidon, la polarisation (pureté), la détermination du degré Brix, les cendres conductimétriques et la matière sèche. Les méthodes de ces analyses sont déjà décrites précédemment dans les paragraphes III.1.6; III.1.5 ; III.2.1 et III.1.1. D'autres paramètres complémentaires tels que la concentration des sucres réducteurs et totaux ont été aussi effectués.

III.6.1. détermination des sucres réducteurs dans la mélasse (méthode de GRD LA BELLE):

La Liqueur de Fehling est un réactif contenant un complexe cuivrique, qui se présente sous forme de d'une solution composé à partir de sulfate de cuivre, de soude et d'un complexant des ions Cu^{2+} : le sel de seignette (tartrate double de sodium et potassium) dont le rôle est d'éviter la précipitation de l'hydroxyde cuivrique. En milieu alcalin et chaud les sucres réducteurs réagissent avec les ions cuivriques en format un précipité

Matériel et Méthode

rouge brique. La solution de Fehling est titrée par la mélasse à 10% en présence de bleu de méthylène. La concentration des sucres est calculée par PCLAB après avoir saisi les volumes de mélasses dépensés pendant le titrage.

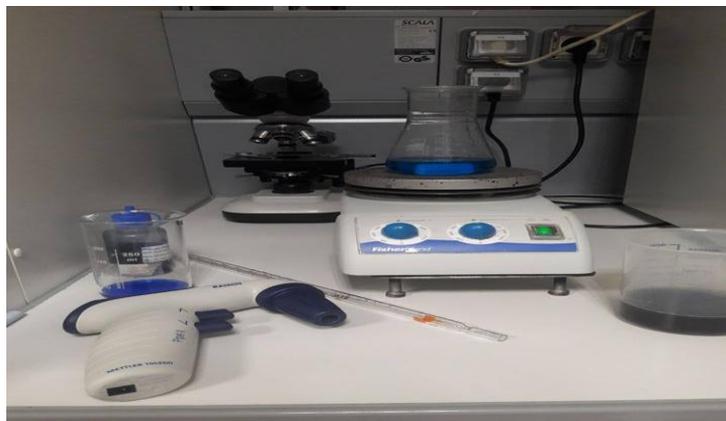


Figure N°32 : Images de la détermination du sucre réducteur dans la mélasse

III.6.2. Détermination des cendres totales dans la mélasse (AFNOR):

La composition minérale englobe les métaux (Na, K, Ca, Mg, Fe,...), les non métaux (S, Cl, Si, P...) et les microéléments (Mn, Cu, Co, Zn, B). Une prise d'essai de 5 g est d'abord séchée puis carbonisée et minéralisée dans un four à moufle. La teneur en cendres X (en %) est calculer comme suit :

$$X(\%) = 100(m_1 - m)/m_2$$

Ou : m_1 = masse du creuset avec les cendre, en g.

m = masse du creuset vide, en g.

m_2 = la prise d'essais, en g.

L'écart entre différent essais doit être ≤ 5



Figure N°33: Images de la mélasse dans le four a moufle

III.6.3. Détermination de la composition en sel minéraux (AFNOR):

Le dosage de certains cations comme le Ca^{++} , Na^+ , K^+ est déterminé par photométrie à flamme. Le photomètre à flamme comporte un dispositif de pulvérisation de la solution dans la flamme, un brûleur, un filtre qui permet de sélectionner une radication caractéristique de l'élément à doser, et un dispositif de mesure constitué d'une cellule photo-électrique, d'un amplificateur et d'un milliampèremètre. Une partie des ions soumis à la chaleur de la flamme passent dans un état excité. Le retour à l'état fondamental des électrons de la couche externe s'effectue avec émission caractéristique de l'ion en présence. La photométrie de flamme repose sur le fait que l'intensité de l'émission est proportionnelle au nombre d'atomes retournés à l'état initial. L'appareil est étalonné à l'aide d'une solution étalon qui doit avoir une composition aussi voisine que possible de la solution à doser de manière à tenir compte de l'interférence d'émission des différentes cations présents dans le milieu.

Le dosage est effectué sur les cendres de la mélasse dissoutes dans 100 ml de HCL à 12%. La teneur en élément à doser est affichée par l'appareil en ppm, sa concentration dans le produit (mélasse) est déterminée par références à des courbes d'étalonnage des solutions salines appropriées.



Figure N°34 : Images de Le photomètre à flamme

III.6.4. Détermination de la viscosité de la mélasse:

La viscosité est déterminée à l'aide d'un viscosimètre (VISCO BASIC PLUS, code V 60002) sur une série de dilution de la mélasse à une température de 20°C.

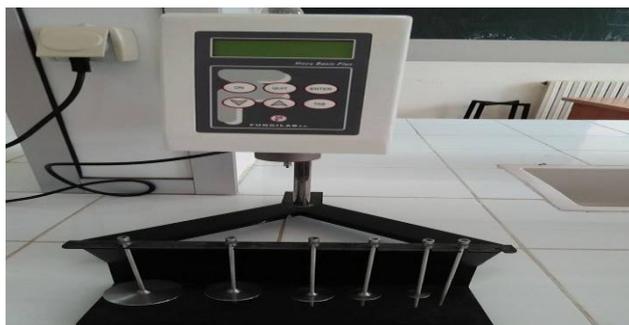


Figure N°35: Images de viscosimètre

III.6.5. Détermination de la teneur en acides organiques dans la mélasse

L'acidité titrable est l'ensemble des principes acides libres libérés dans le milieu. Il s'agit d'un titrage acido-basique: Les acides organiques libres sont neutralisés par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH à 0,1N en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré. Dans cet essai, nous avons adopté la méthode normalisée (AFNOR) utilisée pour le dosage des acides organiques dans les fruits et légumes.

$$A\% = 174 \times 0,1 \times V_{NaOH}/20$$

- A : est le pourcentage de l'acidité
- 174 : est la masse molaire de l'acide aconitique (acide organique dominant dans la mélasse)
- V_{NaOH} : est le volume de NaOH dépensé
- 0,1 : est la molarité de NaOH

III.6.6. Détermination du pouvoir antioxydant de la mélasse et le sucre roux

Selon les dernières recherches la mélasse sucrière peut être une source importante d'antioxydant (payet, 2005). La recherche du pouvoir antioxydant dans la mélasse peut ouvrir une autre branche de valorisation de cette dernière. Le pouvoir antioxydant s'est réalisé sur un extrait méthanolique de la mélasse préparé par dissolution de 20g de mélasse dans 20 ml de méthanol qsp 100ml par l'eau distillée ; après 16 heures d'agitation ; le mélange est filtré puis concentré à pression réduite dans un rotavapor à 40°C.

a. Activité antioxydante totale (TAC).

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène (Prieto et al. 1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous forme d'ion molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO_3 en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo(V) à pH

Matériel et Méthode

acide. Un volume de 0.3ml d'extrait méthanolique est mélangé avec 3ml de solution réactif (0.6M acide sulfurique, 28mM phosphate de sodium et 4mM molybdate d'ammonium) dans des tubes à essai. Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm contre le blanc qui contient 3ml de solution du réactif et 0.3ml du méthanol, celui ci est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydant totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/g MS). Les expériences sont répétées en 3 fois. Une courbe étalon d'acide ascorbique (5 mg/ml) est établie dans les mêmes conditions que le produit.

b. Méthode à la réduction de fer:

Cette méthode est celle du test *Feric Reducing Antioxydant Power assay* (FRAP) qui mesure les pouvoirs de réduction des ions de fer (PR). Le pouvoir réducteur, évalué selon la procédure décrite par **Oyaizu (1986)** avec légères modifications. Cette méthode indique l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{+3} en fer ferreux Fe^{+2} . Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydant des différents antioxydants. La méthode FRAP est basée sur la réaction de réduction de fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{+2}) de couleur bleue-vert du fer ferreux (Fe^{+2}). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700nm.

Différentes concentrations des extraits sont préparées dans l'eau distillée. 1ml de chaque concentration est mélangé avec 2,5ml de la solution tampon phosphate (0,2M, PH 6,6), et 2.5ml de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%) dans des tubes à essai vissés. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20min. Après ce temps, 2,5 ml de l'acide trichloracétique (10%) sont additionnés au mélange, le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. A la fin 2,5ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2,5ml de l'eau distillée et 0,5ml de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (0,1%), l'absorbance est mesurée à 700nm.

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer, l'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

c. Effet radical-balayage de DPPH:

Afin d'étudier l'activité anti radicalaire des différents extraits méthanolique de mélasse, nous avons utilisé une méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par **Sanchez Moreno et al., (1998)**. La technique consiste à mettre le radical libre de DPPH (de couleur violette), en présence de l'antioxydant (extraits méthanolique) ce dernier sera réduit et la solution vire vers le jaune. Ce changement se traduit par une diminution de l'absorbance.

Brièvement, la solution de DPPH est préparée par dissolution de 0,0025g de DPPH dans 100ml de méthanol. 50µl des solutions méthanolique de mélasse ou de standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 1,95ml de DPPH, les mélanges sont incubés dans l'obscurité pendant 30min. La décoloration des solutions est mesurée à 517nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible type *JASCO (v-350)*. L'activité antiradicalaire de DPPH est calculée comme suit :

$$(AA)\% = [(A517\text{control} - A517\text{échantillon}) / A517\text{control}] \times 100$$

Sachant que le control A517: est l'absorbance de la réaction de contrôle (contenant tous les réactifs excepté l'échantillon d'essai), et l'échantillon A517 : est l'absorbance des extraits ou de la référence (voir annexe n°9).

III.6.7. Dosage des composés phénoliques totaux :

Le dosage des composés phénolique totaux dans les extraits méthanoliques (sucre roux et mélasse) est réalisé par la méthode colorimétrique de **Singleton et Rosi (1965)** en utilisant le Folin-Ciocalteu comme réactif. Le principe de la méthode repose sur l'oxydation des hydroxyles des composés phénoliques par le mélange d'acide phosphomoybdique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphotungstique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui constitue le réactif de Folin-Ciocalteu (de couleur jaune). La réduction de ces acides donne naissance à des oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) colorés en bleu. Cette coloration, dont l'absorbance mesurée à 750nm, est proportionnelle au taux de composés phénoliques.

Pour le dosage des polyphénols totaux 200µl d'extrait méthanolique additionnés à 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dans des tubes à essai vissés. Après 5min de repos, on ajoute 1,5 ml de carbonate de sodium 6%, le mélange est mis en agitation vortex à température ambiante et conservé à l'abri de la lumière pendant 20min. Au bout de ce temps,

Matériel et Méthode

l'absorbance est déterminée à 750nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible type *JASCO (V-530)*.

La détermination de la concentration en polyphénol totaux est calculée par référence à une courbe d'étalonnage préparée, dans les mêmes conditions, à partir d'une série de dilutions d'une solution mère d'acide gallique à 0,1mg/ml (annexe n°10). La concentration finale en ces composées est exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme de matière.

III.6.8.Dosage de HMF par spectrophotométrie UV-visible :

Les hydroxyméthylfurfurals (HMF), aussi nommé 5-(hydroxyméthyl)furfural, sont des composés organiques issus de la déshydratation de certains sucres La norme limite des HMF est à 40mg /kg (norme qualité du codex). Le dosage des HMF est effectué en appliquant la méthode originale de White (1979). 5g de mélasse sont diluée dans 5à ml d'eau et additionnée par 0,5 ml de Carrez I et 0, 5 ml de Carrez II. Après trente minutes de repos, on filtre la solution et on prélève deux aliquotes de 5 ml du filtrat qu'on introduit dans deux tubes à essai; 5 ml d'eau sont ajoutés dans un tube (solution de l'échantillon) et 5 ml de sodium bisulfite à 0,2% sont ajoutés dans l'autre tube (solution de référence). Les absorbances (A) des deux solutions est lue à 284 nm contre la solution de référence; Les absorbances à 336 nm sont aussi déterminées pour soustraire les absorbances de fond. La teneur en HMF est calculée par la formule:

$$HMF(mg/kg) = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7/W$$

W : poids de la mélasse (g).

149.7 : Coefficient d'extinction spécifique (ϵ_{HMF}) à 284nm.

III.7.Valorisation de la mélasse pour la production de bioéthanol :

La production de l'éthanol s'est produite par fermentation alcoolique de la mélasse préalablement diluée et enrichie par les sels minéraux et d'autres éléments nutritifs nécessaires à la croissance microbienne.

III.7.1.Préparation du milieu de fermentation :

Nous avons préparé 2l de mélasse diluée ayant un Brix de 10%, le pH est ajusté à 4.5 par une solution d'acide sulfurique à 0.1N après avoir enrichi le milieu par les éléments nutritifs tel que : vitamines (vit B, E,) et sels minéraux (Fer, Cu, Zn,Mg, Mn, Mo,Se,

Matériel et Méthode

Co)(annexen°14) ;Une source d'azote est assurée par l'ajout de 1 ml d'ammoniaque NH_4OH à 30 % et 1 g d'extrait de levures. 3 ml d'acide phosphorique à 85% sont ajoutés comme source en phosphore.

III.7.2.Préparation de l'agent biologique de fermentations :

L'agent biologique utilisé est la levure boulangère sèche *Saccharomyces cerevisiae* 3 g de levures sont dissoutes dans l'eau distillée et introduites dans le milieu de fermentation préalablement stérilisé et refroidi à 30°C. Les levures sont dénombrées en utilisant une cellule de Malassez .Figure n° 36.

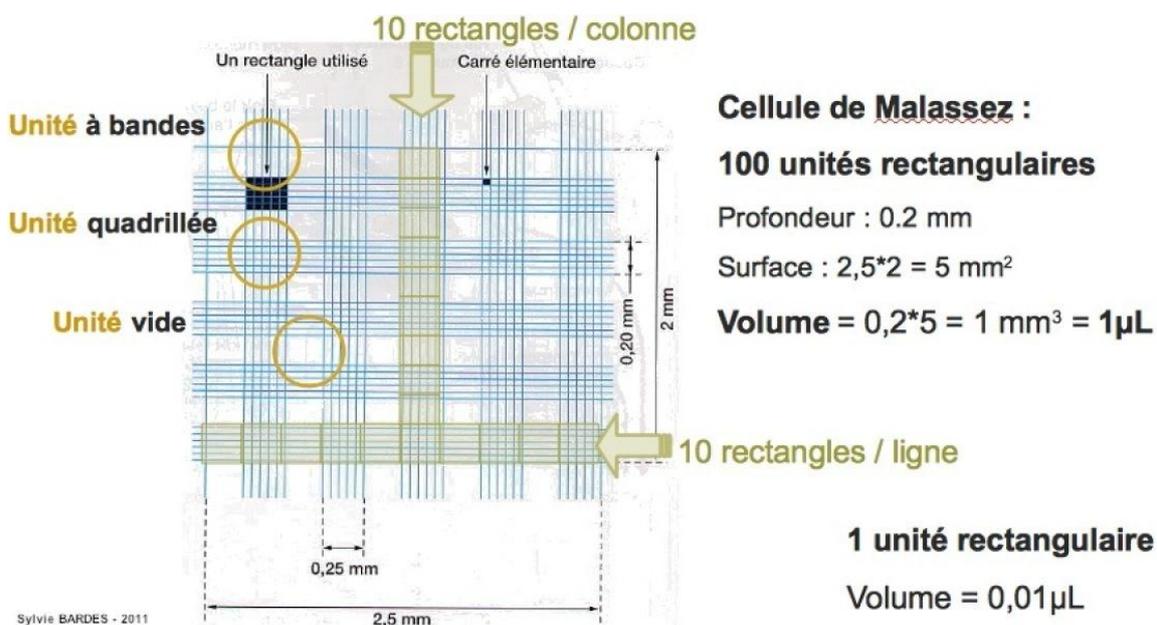


Figure N° 36: Image de cellule de Malassez

Le nombre de cellules N est calculé comme suit:

$$N = \frac{\text{Nombre des cellules comprises dans 10 unités quadrillées}}{10} * 10^6$$

III.7.3.Déroulement de la fermentation alcoolique:

La fermentation s'est déroulée, dans une cuve de fermentation à double parois d'une capacité de 2l (figure n° 37), une pompe thermostatique qui permet de maintenir la température à 30°, est reliée à la cuve de fermentation; cette dernière est déposée sur un agitateur magnétique qui sert à maintenir une agitation douce.



Figure N°37: Images du protocole expérimental de la fermentation alcoolique

III.7.4. Suivi de la fermentation:

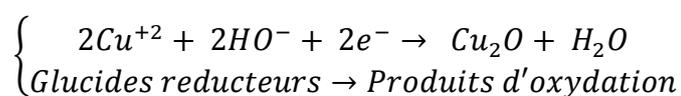
Le suivi de la fermentation pendant 4 jours est réalisé sur des aliquotes prélevées stérilement toutes les 24 heures. Les paramètres suivis sont le degré Brix, la concentration en éthanol, teneur en acidité, le nombre des levures, teneur en sucres réducteurs, teneur en matière sèche et la concentration de l'oxygène dissous. Après le quatrième jour de fermentation, le mout est centrifugé à 3000 rpm pendant 20 min, le culot est lavé puis pesé, tandis que le filtrat est distillé pour récupérer l'éthanol.

a. Détermination du degré Brix:

Le Brix représente la matière sèches soluble, exprimé en pourcentage du saccharose, il est déterminé directement en déposant une goutte du mout sur un réfractomètre type: (Pocket réfractomètre, Cat. No3840) préalablement étalonné à zéro par l'eau distillée.

b. Détermination des sucres réducteurs

La méthode utilisée est celle de Somogui et Nelson décrite par **Audigié et al. (1982)**, cette méthode est basée sur les propriétés réductrices du glucose en milieu alcalin et à chaud. Le réactif oxydant est un réactif cupro-alcalin, rendu faiblement alcalin par un mélange de carbonate et d'hydrogénocarbonat. Le glucose est oxydé, il forme de l'oxyde cuivreux (quantitativement dans les conditions de méthode):



Matériel et Méthode

L'oxyde cuivreux est dosé par colorimétrie, en réduisant un réactif arsenio-molybdique, avec formation d'un complexe bleu intense, stable et soluble. Les concentrations sont exprimées par référence à une courbe d'étalonnage de glucose préalablement établie (Annexe n° 10)

c. Détermination du pH:

Le pH est mesuré comme c'est déjà décrit à l'aide d'un pH-mètre type (*OHAUS*)

d. Détermination de L'acidité du milieu:

L'acidité est évaluée par titration de 10 ml du mout par NaOH (0,1 N) selon (**Riess,2012**)
L'acidité A est calculée par la formule ci dessous :

$$A = 98 \times 0,1 \times V_{NaOH}/20$$

e. Détermination de l'oxygène dissous

L'oxygène dissous est Mesuré à l'aide d'un oxymètre (*Jenway 9500*) en remplissant la cuve de l'électrode avec le mout tout en évitant la présence des bulles d'air dans la cuve remplie, la concentration en O₂ dissous dans le mout est alors affichée sur l'écran de l'appareil.

f. Détermination de l'indice de brin dans le mout.

L'indice de brin est déterminé par lecture de la densité optique d'une prise d'essai du mout (préalablement centrifugée et filtrée) à 420 nm.

g.L'indice de formole

Le but est de déterminer l'azote assimilé par les levures. Une prise d'essai de 25 ml est introduite dans Erlen meyer, puis ajusté à pH 8 par une solution de soude à 0, 15 ml formaldéhyde préalablement neutralisés par la soude sont ajoutés à la prise d'essai; après 5 min passées on titre les acides aminés libérés par Na OH à 0,1 N.

$$\text{L'indice de formol} = EP1 * CO1$$

- EP1 : le volume de NaOH nécessaire pour neutralisée la solution à analyser après l'ajout de formol.
- CO1: 4 pour un volume de 25ml d'échantillon.

h.Dosage de l'éthanol:

Principe:

L'éthanol est oxydé par une quantité connue et en excès, de dichromate de potassium, en milieu acide (mélange de K₂Cr₂O₇ et HNO₃). D'abord l'éthanol est séparé du mout par hydro distillation (Figure n°41). Dans un Erlenmeyer, on introduit 20 ml de distillat d'éthanol et 20 ml de la solution nitrochromique à 0, 05 N. ; on bouche l'Erlenmeyer

Matériel et Méthode

hermétiquement et on attend 30mn (pour que l'oxydation de l'alcool soit complète), on ajoute 10ml de solution de KI à 100g/l, après avoir préalablement dilué le milieu par 40ml environ d'eau redistillée, on attend 1mn, puis on dose l'iode formé par une solution de thiosulfate à 0.05N de titre connu. On prépare un témoin en opérant comme pour l'essai, en remplaçant les 20ml de distillat par 20ml d'eau redistillée.



$$C_{g/l} = V_1 \left(E_1 - E_2 \times \frac{V_1}{V_2} \right) \times \frac{46}{4} \times \frac{1}{E''} \times \frac{E'}{E''}$$

Ou: E: 20 ml de la prise d'essai

E': 35 ml de distillat (renferment la totalité de l'éthanol)

E'': 20 ml de distillat que l'on soumet à l'oxydation.

V₁: volume de Solution de thiosulfate de sodium à 0, 05 N versé pour l'échantillon

V₂: volume de Solution de thiosulfate de sodium à 0, 05 N versé pour le témoin

E₁: la prise d'essai pour l'essai à blanc.

E₂: la prise d'essai pour l'échantillon.



Figure N° 38: Images du dosage de l'éthanol

i. Détermination de la masse volumique et la densité relative à 20 °C par la méthode Pycnométrique (OIV-MA-AS2-01A)

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de moût à 20 °C par ce volume. Elle s'exprime en grammes par millilitre et son symbole est ρ

Matériel et Méthode

La densité relative à 20 °C ou densité 20 °C/20 °C est le rapport exprimé en nombre décimal, de la masse volumique de moût à 20 °C à la masse volumique de l'eau à la même température. Son symbole est : $d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}}$.

L'échantillon est d'abord traité par agitation magnétique pour chasser le gaz carbonique et par filtration.

On pèse la masse du pycnomètre propre à sec (P) et la masse du pycnomètre plein d'eau à t °C (P1). On tare le pycnomètre vide soit: Tare du pycnomètre vide = P - m; avec m masse d'air contenue dans le pycnomètre : $m = 0,0012 (P1 - P)$.

On détermine le volume du pycnomètre à 20 °C : $V_{20^{\circ}\text{C}} = [P1 - (P - m)] \times Ft$

Ft= facteur relevé dans la table I (annexe n°16) pour la température t °C;

$t = 1,001819$ à 20 °C

$V_{20^{\circ}\text{C}}$ doit être connu à ± 0.001 ml près. Soit la masse en eau à 20 °C :

$M_{20^{\circ}\text{C}} = V_{20^{\circ}\text{C}} \times 0,998203$

0,998203 = masse volumique de l'eau à 20 °C. On pèse le pycnomètre plein de l'échantillon préparé pour essais : Soit P2 sa masse à t °C.

Masse du liquide contenu dans le pycnomètre à t °C = P2 (P - m)

$$\rho_{t^{\circ}\text{C}} = \frac{P_2 - (P - m)}{V_{20^{\circ}\text{C}}}$$

On calcule la masse volumique à 20 °C du liquide étudié ou à t °C à l'aide d'une table de correction (annexe n°18). La densité 20 °C/20 °C est obtenue en divisant la masse volumique à 20 °C par 0,998203.

III.7.5. Etude de l'influence du Brix et du pH initial du milieu de fermentation sur la production du bioéthanol par méthodologie des plans d'expérience.

Plan d'expérience consiste à mettre en œuvre une stratégie de travail dans le but de réduire le nombre des essais tout en atteignant l'objectif. De sa connaissance, on peut déduire les meilleurs ajustements des facteurs pour répondre à une question donnée, minimisation ou maximisation de la réponse par exemple. Les plans d'expériences permettent de trouver cette surface de réponse en effectuant un minimum d'essais et en obtenant une bonne précision sur la localisation.

On peut représenter la fonction qui lie la réponse aux facteurs par une expression très générale de la forme : $y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$. On utilise des unités codées qui proviennent de la transformation des unités d'origine en attribuant la valeur « -1 » au niveau bas d'un

Matériel et Méthode

facteur et la valeur « +1 » au niveau supérieur (figure n°39). L'utilisation des valeurs codées a pour conséquence de permettre la standardisation des effets des facteurs facilitant ainsi leur comparaison. (Goupy, J.2006)

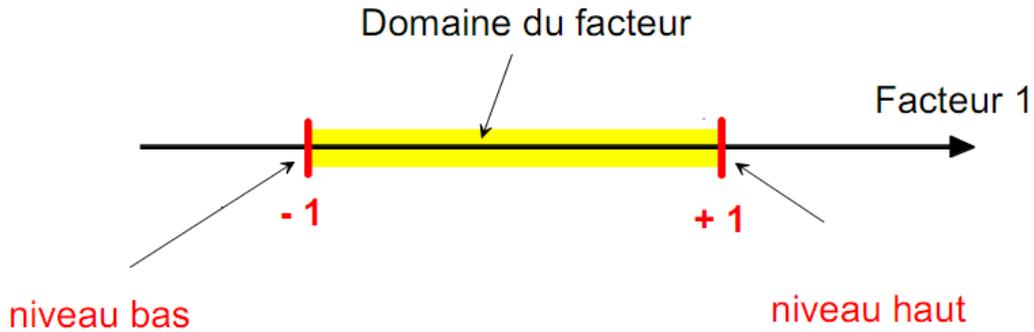


Figure N°39 : Niveaux des facteurs

Les valeurs en unité codée sont calculées d'après la formule ci dessous :

$$x_1 = \frac{Xi - \bar{x}}{\Delta X}$$

xi : valeur réelle ou naturelle

: Valeur centrale réelle (moyenne) \bar{x}

$$\bar{X} = \frac{(X_{sup} - X_{inf})}{2}$$

Tableau N°6 : Niveau des variations des facteurs

	Niveau de variation des facteurs			
	Niveau inférieur X_{in}	Niveau centre \bar{X}	Niveau supérieur X_{sup}	Intervalle de variation ΔX
brix°	5	10	15	5
pH	3	4	5	1



Figure N°40: Images de la production du bioéthanol par méthodologie des plans d'expérience

III.7.6.Purification de l'éthanol

Pour séparer l'éthanol des autres volatils, une série de distillation à pression réduite à 60C° et 40C° dans un rotavapor est effectuée, la densité est mesurée pour chaque distillat. Les distillats sont récupérés pour une hydro distillation à 85 ° C. (Figure n°41), le distillat récupéré représente l'éthanol pur.



Figure N°41 : Image de l'hydro distillation de l'éthanol à 85 °C

III.7.7. Caractérisation de l'éthanol pur.

- a. **Détermination de la densité relative.** La densité de l'éthanol est déterminée en utilisant densimètre flotteur et un pycnomètre

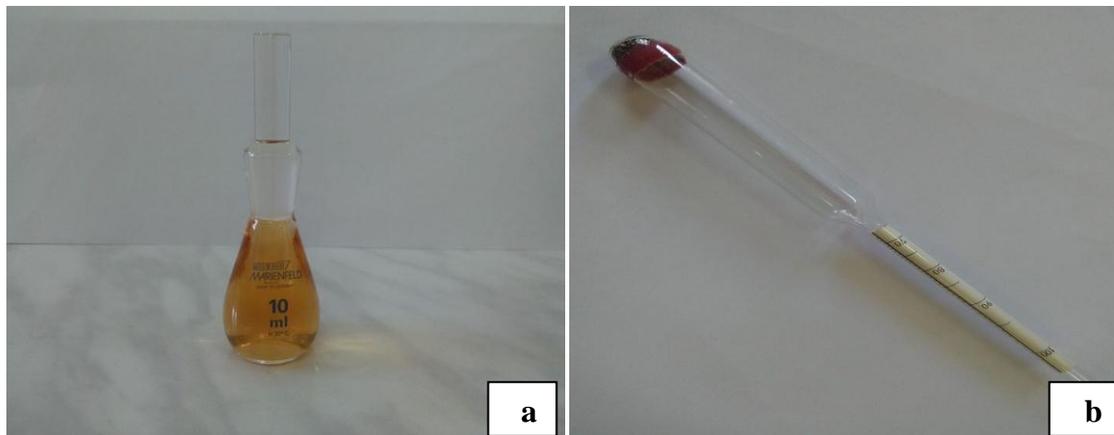


Figure N°42: a : Image du pycnomètre et b : Image de densimètre flotteur

- b. **L'odorat de l'éthanol:** est analysée sur 15 individus par comparaison à l'odeur de l'éthanol absolu 95° provenant de la maison *Sigma Aldrich*.
- c. **Analyse de l'éthanol par chromatographie phase gazeuse (CPG):**

La CPG repose sur l'équilibre de partage des analytes entre une phase stationnaire et une phase mobile gazeuse. La séparation des analytes repose sur la différence d'affinité de ces composés pour la phase mobile et pour la phase stationnaire.

Le mélange à analyser est vaporisé puis transporté à travers une colonne renfermant une substance liquide ou solide qui constitue la phase stationnaire. Le transport se fait à l'aide d'un gaz inerte, appelé « gaz vecteur », qui constitue la phase mobile. Ainsi, les analytes se séparent puis sortent de la colonne les uns après les autres. La durée entre la temps d'injection et celle de sortie de colonne d'un analyte A est son « temps de rétention ».

L'analyse conduit à l'obtention d'un chromatogramme (**Rouessac, 2004**). les condition opératoires sont les suivants.

Matériel et Méthode

Tableau N °7 : Conditions opératoires de la CPG de l'éthanol.

Conditions Opératoires	
<i>Chromatographe</i>	<i>Chrompack CP 9002</i>
<i>Détecteur</i>	<i>FID (280 °C)</i>
<i>Injecteur</i>	<i>SPLIT 1/100 (250C°)</i>
<i>Gaz vecteur</i>	<i>Azote 1ml/mn</i>
<i>Colonne Capillaire</i>	<i>CP Sil 5 CB</i>
<i>Longueur</i>	<i>30 m</i>
<i>Diamètre intérieur</i>	<i>0,32 mm *0.25 UM</i>
<i>Epaisseur</i>	<i>0,25 µm du film</i>
<i>Températures</i>	
<i>Injecteur</i>	<i>200°C</i>
<i>Détecteur</i>	<i>250°C</i>
<i>Four</i>	<i>50c°----120 C° 2C°/mn</i>
<i>Quantité injectée</i>	<i>05 UI</i>
<i>Vitesse du papier(Intégrateur)</i>	<i>1 cm/ mn</i>

III.8.Essai de production de l'acide acétique (vinaigre) à partir du bioéthanol par fermentation acétique.

Dans cette partie de travail, nous avons opté à la production du vinaigre par biooxydation du bioéthanol produit. L'agent biologique de la fermentation acétique sont *les acétobacters aceti* ou *gluconobacters*.

Dans ce cadre on a effectué plusieurs essais d'isolement des différentes des bactéries acétiques à partir du mout et un jus de datte fermenté, l'isolement s'est effectué sur le

Matériel et Méthode

milieu des bactéries acétiques, milieu de carr et milieu de Frateur). la croissance des microorganismes sur ces milieux n'a pas montré la présence de ces bactéries sur les milieux de carr et frateur, par ailleurs des colonies uniformes et blanches sont observées sur le milieu pour bactéries acétiques (annexe n°12). L'identification de ces bactéries par *Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight (MALDI TOF MS)* a montré qu'il n'a pas montré de quelle bactérie s'agit il.

Un essai de fermentation de 50 ml du milieu pour bactérie acétiques contenant 0,5% d'éthanol a conduit à une diminution de pH de 7,3 à 6. après 24 heures à 30° et avec agitation 200 rpm.



Figure N°43 : Image de l'essai de fermentation acétique

III.9. Inversion enzymatique du saccharose de la mélasse :

Cette opération est une des étapes de production du sirop de glucose, l'hydrolyse du saccharose dans la mélasse permet aussi de diminuer sa viscosité et d'augmenter sa durée de conservation, ce qui empêche sa cristallisation.

III.9.1. Essai de l'activité enzymatique de l'invertase sur le sucre blanc purifié

L'invertase utilisée est une saccharase Art.7684 saccharase (invertase β -fructosidase) lyophilisé 200 μ /mg. Son activité enzymatique est testée sur le sucre blanc purifié de GRD en utilisant la méthode planimétrique et la méthode chimique par dosage des sucres réducteurs apparus:

Une solution d'ose ou d'osides, traversée par un faisceau de lumière polarisée, fait tourner d'un angle α le plan de polarisation de la lumière. L'angle α est donné par la loi de Biote (Audigié et al., 1982)

Matériel et Méthode

$$\alpha = [\alpha] \times l \times c$$

Ou : α est l'angle de rotation du plans de polarisation(en degrés d'angle)

$[\alpha]$ est le pouvoir rotatoire spécifique de la substance dissoute (en degrés d'angle)

l est longueur de solution traversée (en dm)

c est concentration massique de la solution en g/ml.

$[\alpha]$ est positif si la substance est dextrogyre, $[\alpha]$ est négatif si la substance lévogyre.

1 g de sucre blanc est dissous dans 100 ml de solution tampon acétate (PH 4,5), on introduit 50 ml de cette solution dans un Erlen Meyer et on détermine son pouvoir rotatoire dans le polarimètre (SCHMIDT+ HAENSCH D-6072). Dans un autre Erlen meyer 1 ml d'invertase à 0,1% sont ajoutés à 50 ml de la solution sucrés; le mélange est incubé dans un bain agitateur à 37°C pendant 40 min à 250 rpm. Après refroidissement α est à nouveau déterminée.

La détermination des sucres réducteurs par la méthode de Somogui et Nelson est aussi effectuée avant et après hydrolyse d'une série de dilutions d'une solution de sucre blanc à 0,025%. Tableau n° 8.

Tableau N°8 : Préparation des solutions pour l'étude de l'inversion de saccharose

Essais	1	2	3
Volume 5(ml) de solution tampon acétate pH4,5	9,5	8,5	7,5
Volume (ml) de solution de saccharose à 0,025 g/l	0,5	1,5	2,5
Concentration g/l	$1,25 \times 10^{-3}$	$3,74 \times 10^{-3}$	$6,25 \times 10^{-3}$
Volume d'invertase	200 μ l		

Dans les mêmes conditions que le sucre blanc on introduit dans un Erlenmeyer 25 g de mélasse à laquelle on ajoute 1 ml d'invertase à 0, 1% et on porte à 37°C dans un bain marie agitateur, pendant 30 min.

Matériel et Méthode

Un essai à blanc est préparé dans les mêmes conditions constitué de 25 g de mélasse et 1 ml eau distillée. On refroidie et on mesure la viscosité avant et après stockage de 30 jours.

Résultat et discussion

Chapitre IV : Résultat et discussion

IV.1. Analyse et contrôle de la qualité des produits de la raffinerie :

IV.1.1. Analyses physico-chimique du sucre roux

Les résultats des analyses physicochimiques du sucre roux (matière première) sont représentés dans le tableau n°9.

Tableau N°9 : Analyses physico chimique du sucre roux.

Analyse	Résultat	Normes	Observation
Humidité %	0.08	$\leq 0,15$	Conforme
Coloration UI	708UI	≤ 1000 UI	Conforme
Polarisation °Z	98,6 °Z	≥ 98	Conforme
Cendre UI	0.0872 UI	≤ 1 UI	Conforme
Amidon PPM	378PPM	< 200 PPM	Conforme
PH	6.24	entre 6-7	Conforme

UI: unité internationale; °Z: degré de polarisation; PPM: partie par million.

Le contrôle effectués sur la matière première, permet de délivrer aux ateliers de production un sucre roux sur et conforme, a fin d'élaborer un sucre raffiné qui répondra à la spécificité des normes et à l'exigence des clients.

Tous les résultats obtenus montrent la conformité de l'échantillon du sucre roux aux normes en vigueur au niveau de GRD LABELLE comme il est indiqué dans le tableau N°9

IV.1.2. Analyses physico-chimique de sucre blanc :

Les résultats des analyses physicochimiques du sucre blanc sont représentés dans le tableau n°10.

Résultat et discussion

Tableau N°10: Analyse physico chimiques du sucre blanc.

Analyse (norme)	Résultat	observation	analyse	résultat	observation	
H% (<0,04%)	0,024	Conforme	Pol Z° (≥98,8)	99,7	Conforme	
Coloration Filtrée UI (≤43 UI)	23	Conforme	filtrabilité	V ₁	240	Conforme
				(≥220 ml)		
V ₂	290					
Coloration non filtrée IU	27		colmatage	4,8		
PE (<4,7)	3,08					
Amidon (<200ppm)	19	Conforme	Trouble (≤20UI)	4	Conforme	
			PH (7-8,5)	7,29	Conforme	
Teste de propreté (<1,5 PE)	Point blanc	0,5	Cendre Cond µs/cm	UI (≤27)	17,90	Conforme
	Point noire	0,5		PE (≤8,3)	5,96	
Aspect visuel	L ₁	1,5	Les insolubles (< 7 mg/ kg)	1,6	Conforme	
	L ₂	1,19				
	L en UI	1,17				
	PE (≤5)	2,3				

La qualité du sucre blanc dépend, entre autres, de la teneur en cendres, de son aspect (Blancheur) et de sa coloration en solution....

Résultat et discussion

Dans la méthode des points utilisée en Europe, un nombre de points est attribué à chacun de ces critères. Ces points sont pondérés de telle manière qu'ils conservent leur importance relative. La qualité du sucre est d'autant meilleure que la somme des points est faible,

Selon le tableau n°10 tous les résultats obtenus montrent la conformité de l'échantillon de sucre blanc aux normes en vigueur au niveau de GRD LABELLE .

Par ailleurs certaines bactéries du genre *leuconostoc*, influencent la qualité commerciale du sucre, par production de l'acide lactique par conséquent le pH du sucre en solution diminue. Le pH doit se situer entre 7 et 8,5; dans notre cas le pH du sucre analysé est de 7,2.

Tableau N°11 : Les résultats des tests odeur, goût, apparence et odeur après acidification de sucre Blanc.

Teste	Odeur après acidification	Odeur	Gout	Apparence	Teste de floc
Observation	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence

Selon les résultats des tests odeur, goût, apparence et odeur après acidification de sucre Blanc qui sont regroupées dans le tableau n°11, le sucre LA BELLE ne présente pas des défauts organoleptiques.

- **Analyses granulométriques du sucre blanc.**

Tableau N°12: Résultat de La granulométrie de sucre blanc.

Ouverture (mm)	1	0.800	0.630	0.500	0.400	0.315	0.250	0.200	0.125	fond
Poids des fraction de sucre (g) /100g	12.12	20.85	25.23	18.55	10.40	6.40	2.84	1.54	1.37	0.45

La granulométrie se caractérise par l'ouverture moyenne (O.M.) qui définit la dimension moyenne des cristaux, et par le coefficient de variation (C.V.) qui Précise la dispersion des dimensions autour de cette valeur moyenne. (Tableau n°12)

Sur le plan pratique, les principaux types de produits sont : Les cristallisés, Les semoules qui sont plus fines et Les glaces obtenues par broyage et tamisage très fins.

Le sucre BELLE est un sucre cristallisé d'ont l'OM est de l'ordre de 0,69.

Résultat et discussion

Tableau N° 13 Dimension moyenne des cristaux calculés par LE PCLAB

OM [0,4 à 0,7]	CV < 50	CR >0,98	Passant < 0,200
0.69	37.6	1	1.82

Ces résultats concordent avec ceux obtenus en utilisant la technique à diffraction Laser, montrés sur la figure n°44 ; les histogrammes relatifs au sucre blanc (destiné à coca cola) montrent que les particules ayant un diamètres de 630,957 μm présentent le plus grand pourcentage en volume (21,45 %), suivi par les particules ayant un diamètre de 549,54 μm dont le volume est de 20,12%. la granulométrie du sucre roux est proche du produit fini tel que les particules de diamètre 630, 95 représentent la plus grande fraction en volume (24, 85%). (Annexe n°16)

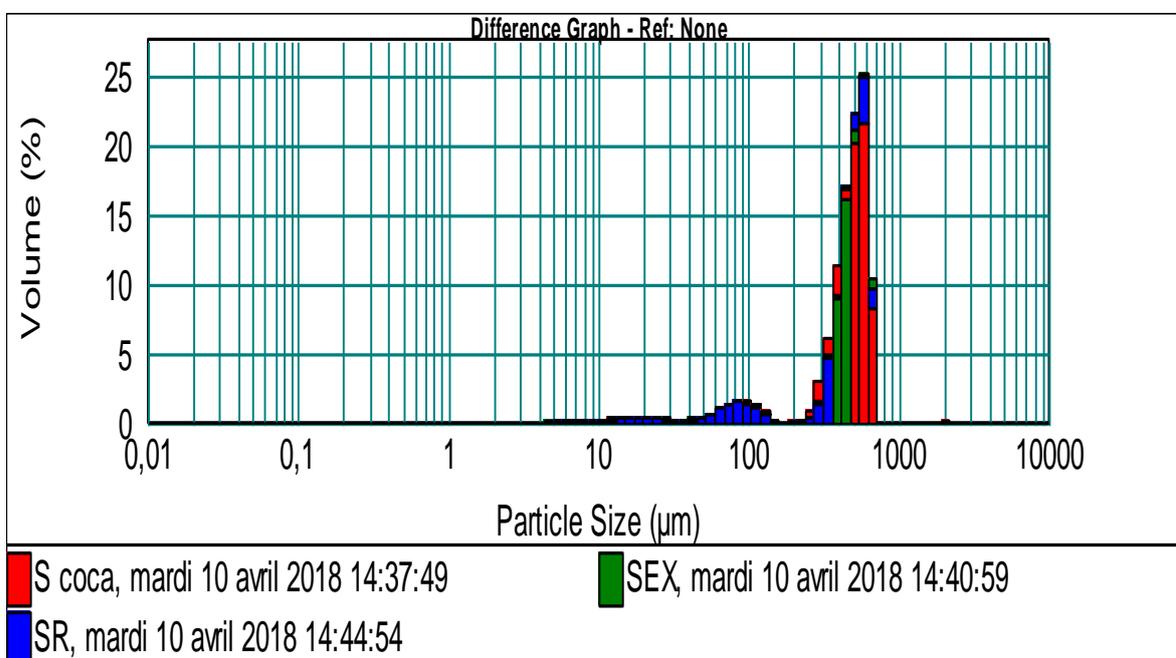


Figure N° 44: Analyse granulométrique des sucres par diffraction Laser (MASTERSIZER 2000).

IV.1.3. Analyses de l'eau du processus.

L'eau est une matière première incontournable dans l'industrie agroalimentaire car elle est partout : dans les matières première, dans le processus et dans les systèmes de refroidissements, ce qui nécessite des contrôles réguliers de l'eau a fin d'assurer sa qualité (Tableau n°14)

Résultat et discussion

Tableau N°14 : Analyses de l'eau (GRD LA LELLE)

Désignations	Eau.brute	Eau brute filtrée	Eau adoucie	Eau de réserve	Eau traitée charbon
TA			00		
TAC			3.4		
PH	7.89	7.78	7.99	7.15	
TH	2.1		00		
Conductivité		1020	1070 ($\mu\text{sm/cm}$)	1087	
Désignations	E.deminee osmoseur 1	E.deminee osmoseur2	E.deminee CDI	E.deminee bac 120m ³	E.deminee réservée 500 m ³
TA	00	00			
TAC	0.3	0.2			
PH	7.84	6.28		6.12	5.94
TH	00	00			
conductivité	5.28	3.58	0.362	2.51	1.240

Les valeurs de TA, TAC PH et TH Sont conformes aux normes fixées par GRD LA BELLE grâce au traitement quotidien des eaux. Cela permet d'obtenir une eau qui a une meilleur mouillabilité et solubilité de sucre.

IV.1.4. Analyses microbiologiques du sucre blanc (effectués au sein du laboratoire de GRD)

L'objectif du contrôle microbiologique est de garantir une certaine sécurité hygiénique pour le consommateur.

Le sucre doit avoir une bonne qualité microbiologique. Il ne doit comporter qu'une infime quantité de Bactéries, Levures et Moisissures.

Tableau N°15: Résultat microbiologique de sucre blanc

Bactériologie	résultat	Norme	observation
Mésophiles	70	< 200/10g	Conforme
Levures	9	< 10/10g	Conforme
Moisissures	9	< 10/10g	Conforme

Résultat et discussion

Les résultats des analyses microbiologiques de sucre blanc, montrent la présence d'un nombre réduit de Bactéries, Levures et Moisissures. Ce qui est conforme à la norme (tableau n°15) D'après ces résultats, le sucre produit par la GRD LABELLE est de qualité microbiologique satisfaisante. (Annexe n°3)

IV1.5.La qualité de sucre labelle :

Les résultats des différentes analyses physicochimique et microbiologique montrent que le sucre produit par la raffinerie GRD LABELLE est de bonne qualité.

Le sucre LABELLE est raffiné selon des spécifications prédéterminées par la société et selon le contexte réglementaire et normatif pour maîtrise de la sécurité alimentaire, protection du consommateur (*hygiène, ISO 22000, ISO 9001*) et assurer la satisfaction du client pour pouvoir résister à la concurrence et garder sa place sur le marché national.

IV.1.6.Analyse des sous-produits

IV.1.6.1. Les écume

Les analyses effectuées sur les écumes sont celles représentées dans le tableau n°

Tableau N°16: résultat de matière sèche et de polarisation des écumes

Analyse	Norme	Résultats obtenu	Observation
la matière sèche%	≥ 55 %	65.48	conforme
Polarisation	°Z≤1	0.07	conforme

Les résultats exprimés dans le tableau sont conformes en vigueur au niveau de GRD LABELLE . En effet les écumes sont des déchets qui proviennent des bouts riches en carbonates, ces derniers représentent la majorité de la matière sèche dans les écumes. La polarisation qui indique la présence des sucres doit être de concentration très faible pour éviter les pertes en sucres.

IV.1.6.2. Analyses physicochimique de la mélasse :

La mélasse issue de la raffinerie se caractérise par sa couleur brune (figure n° : 45) et d'odeur agréable, elle présente par ces caractéristiques une forte appétence.

Les analyses effectuées sur la mélasse au sien du laboratoire de la raffinerie sont regroupées dans le tableau suivant :

Résultat et discussion



Figure N°45: image de la mélasse

Tableau N°17 : Résultats des analyses physicochimique de la mélasse réalisées dans le laboratoire de la raffinerie :

Analyse	Brix (%)	Pola (°Z)	Pureté (%)	PH	Cendre condu. (µs/cm)	Amidon (ppm)	Sucre réducteur (%)
Résultat	81 ,89	53,81	71,6	6,61	7,51	56	2,03
Norme	80-85	–	58-62	6-7	–	–	–

Dans le tableau n°17 on remarque que la valeur de la pureté de la mélasse est obtenue plus élevée que celle indiquée par les normes, cela signifie que cette mélasse est plus riche en saccharose que l'on souhaite. La concentration en sucres réducteurs est faible, par contre que son Brix varie de 81 à 89 %. Le pH de la mélasse est proche de la neutralité.

IV.2. Valorisation de la mélasse

Pour destiner la mélasse à une valorisation rentable, nous avons complété les analyses effectuées à l'unité GRD labelle par d'autres analyses physicochimiques tel que: les sels minéraux, les cendres, la matière sèche à 70°C, l'acidité, la viscosité, le pouvoir antioxydant et le dosage des poly phénols.

Résultat et discussion

Tableau N° 18: Analyse complémentaire de la mélasse

analyse	DO (420 nm)	Matière sèche%	Humidité %	Cendre %	Acidité degré d'acide aconitique (%)	Les sels minéraux en ppm		
						K	Na	Ca
résultat	2.352	95,22	4 ,52	5 ,47	3,04	3,5* 10 ⁻²	4*10 ⁻²	2*10 ⁻²

Dans le tableau, la teneur en eau est de 4,52%, et la matière sèche est trouvée 95,22%; ces valeurs sont élevée par rapport à celle trouvées en appliquant les méthodes de GRD La BELLE (85%) et par rapport à celles citées dans la littérature; d'après **Christon et Le Dividich, (1978)** l'humidité da la mélasse varie entre 15 à 25%.

La matière sèche est due essentiellement à la matière sucrée, les glucides représentent environ 65% des constituants de la mélasse (**Chritone et Le Dividich 1978**); la mélasse étudiée contient 81,89 % de glucides. Ce sont essentiellement les glucides solubles saccharose (50 à 55%) des glucides totaux, fructose 15% et glucose 13%; d'autres glucides quoi qu'en plus faible quantités ont été identifiés: le xylose, arabinose, les gommés et les pectines (**Chritone et Le Dividich 1978**). La présence de mannitol couramment utilisé en thérapeutique humaine est également signalée dans la mélasse de canne (**Chritone et Ledivich 1978**). Une partie de cette fraction glucidique reste intermédiaire, elle pourrait représenter les hydroglucides résultant de l'action des hautes températures, associée à un pH alcalin, sur les glucides solubles connues de la mélasse (**Chritone et Le Dividich 1978**). Les mêmes auteurs proposent que des modifications susceptibles d'affecter les molécules de glucose et de fructose, peuvent entraîner d'une part la transformation du glucose et d'autres parts la production des composés furfuriques dont la présence a été confirmée dans la mélasse de canne par **Yokato et Fagerson, (1971)**. Dans notre travail la valeur des composés hydroxyméthylfurique est nulle.

La densité optique à 420 nm de la mélasse à 20% est de **2,352**, ce qui correspond à un taux de coloration de **10,89%**, cette valeur indique que cette mélasse est riche en substances non sucrées relativement à certaines mélasses de canne étudiées par. (**Farih,,2015**) tel qu'ils ont enregistré des valeurs autour de 5%.

Résultat et discussion

La teneur en acides organique (tableau n°18) se rapproche beaucoup à celle citée par Bernard et al. (**Bernard et al., 1991**), ces auteurs ont enregistré que la fraction organique non sucrée de la mélasse correspond à une quantité non négligeable de gommés solubles et complexes hydrocarbonés (4%) et acides organique (3%). (**Chritone et Le Dividich; 1978**) ont mentionné que la mélasse de canne contient 5 à 6% d'acides organiques. L'acide aconitique est quantitativement le plus important, 5 à 6% dans la mélasse de canne, d'autres acides peuvent être présents en faible quantité tel que l'acide malique, l'acide citrique et l'acide succinique (**Bernard et al, 1991**). De plus on y trouve, en faible quantité des acides minéraux tels que l'acide nitrique (0,15%) (**Chritone et Le Dividich; 1978**). L'extraction des acides organiques de la mélasse en particulier l'acide aconitique utilisé dans l'industrie alimentaire comme acidulant a été étudié par (**Pislor 2011**).

La mélasse se caractérise par une grande richesse en matière minérale (8%) du poids frais (**Chritone et Le Dividich; 1978**). Nos valeurs trouvées correspondent ces valeurs (tableau n°17 et n° 18). Plus précisément elle est riche en potassium 40% de la totalité des éléments minéraux, elle est par ailleurs pauvre en calcium (8%) probablement en raison de l'introduction de la chaux lors de la défécation du jus de canne au cours de la fabrication du sucre. En revanche la mélasse est pauvre en phosphore. Les oligoéléments sont assez présents dans la mélasse (fer 0,3g/kg; Mg 3à 4 g:kg). Le zinc (10 mg/kg, Mn 40 mg/kg et le cuivre 20 mg/kg sont faibles). Le cobalt, l'iode et le molybdène sont à l'état de traces (**Chritone et Le Dividich; 1978**).

Tableau N° 19 Résultat de la mesure de la viscosité de mélasse

Essais N°	Concentration de mélasse en (%)	Viscosité (mpa .s)	Erreur %
1	100%	14292	10,7
2	66,66%	37,2	1,6
3	50%	17.2	0,4
4	33,33%	10,1	0,3

Dans le tableau n°19 on constate que la mélasse est très visqueuse, sa viscosité diminue par dilution dans l'eau distillée.

Elle est dense, la densité de la mélasse est de 1,35 environ et son pH est légèrement acide (**Chritone et Le Dividich 1978**).

Résultat et discussion

IV.2.1. Teneur en composés phénoliques totaux dans la mélasse

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait méthanolique de mélasse et sucre roux a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique par ml d'extrait (mgEAG/ml d'extrait). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9307$ (figure n°46)

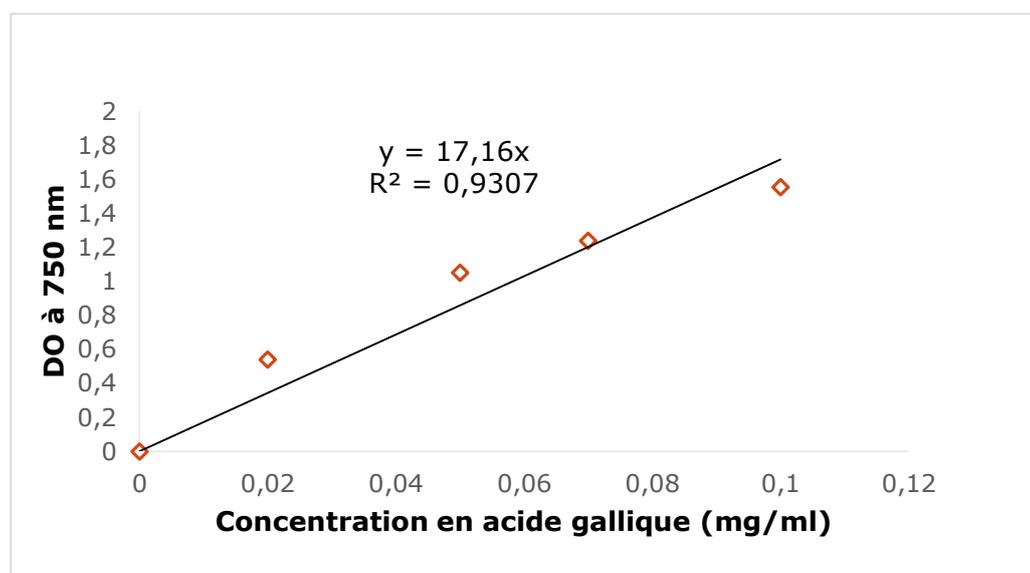


Figure N°46: Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des polyphénols totaux.

Tableau N°20: Teneur en composés phénoliques totaux dans l'extrait méthanolique de la mélasse et le sucre roux.

Produit	Teneur en composés phénoliques en (mgEAG/ml d'extrait)
Extrait méthanolique de mélasse	$6 * 10^{-2}$
Extrait méthanolique de SR	$0.67 * 10^{-2}$

La teneur en polyphénols dans la mélasse est considérable $6 * 10^{-2}$ mg /ml, soit 30g par 100g de mélasse. Comparativement au sucre roux la teneur en polyphénols est faible (3.35%), cela est probablement dû au fait que la mélasse est un produit concentré. Ces substances peuvent être valorisées à usage industriel après leur identification. On a identifié dans le jus de canne des composés phénoliques plus ou moins polymérisés et assimilés à des tanins au nombre desquels figurent la dicoumarine (anticoagulant) (Chritone et Ledivich 1978).

Résultat et discussion

Plus tard, dans les travaux de recherches de **Payet, (2005)**, la teneur en polyphenol dans le sucre brun variait entre 108,1 à 259,6 mg d'équivalent d'acide gallique par kg de produit.

IV.2.2.Détermination du pouvoir antioxydant :

Le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques de mélasse et du sucre roux ont été réalisés en appliquant trois techniques chimiques : la capacité antioxydante totale, la réduction de fer (FRAP) et effet radical-balayage de DPPH:

- **L'activité antioxydant total (TAC)**

La capacité antioxydant obtenus à partir de l'extrait méthanolique a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence, l'acide ascorbique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide ascorbique par ml d'extrait (mgEAA/ml d'extrait). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9398$.

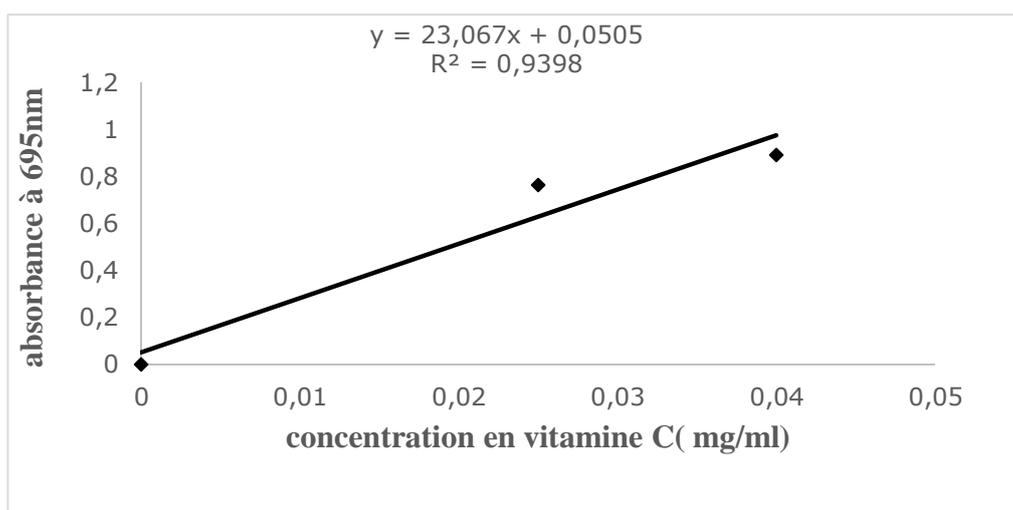


Figure N°47: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Tableau N°21: capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de la mélasse et de sucre roux

Extrait méthanolique	Capacité antioxydant (mgEAA/ml d'extrait)
Sucre roux	0,020
mélasse	0,073

Résultat et discussion

Les valeurs trouvées correspondent à une concentration de 0,02 mg/ml dans le sucre roux et 0,073 mg/ml dans la mélasse, la valeur en antioxydants dans la mélasse est plus élevée que cette dernière est très concentrés en matières sèches (Figure n°48).

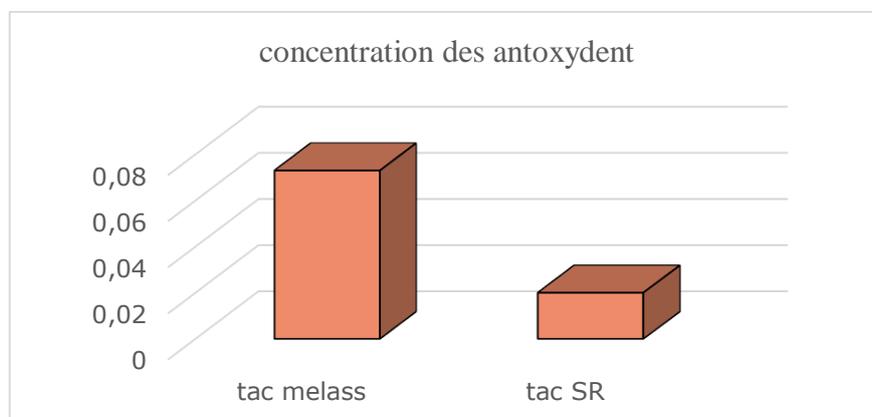


Figure N° 48 : Histogrammes de l'activité antioxydant de mélasse et de sucre roux par la méthode de TAC

- **Méthode de réduction de fer, méthode FRAP (reducing antioxidant power or plasma):**

Les résultats de l'activité réductrice de l'extrait méthanolique de mélasse et de sucre roux étudiés sont représentés dans la figure n°49. Nous constatons que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration en vitamine C de même pour les extraits méthanoliques de la mélasse et du sucre roux.

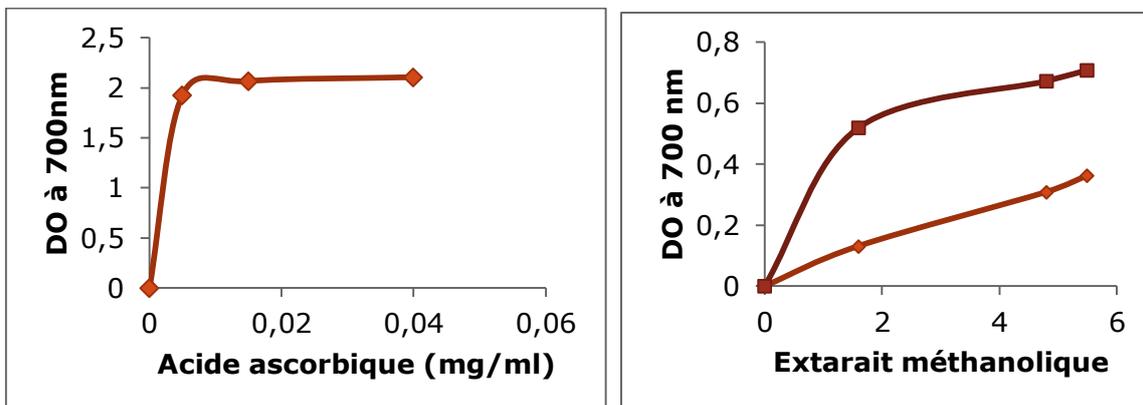


Figure N°49 Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et de la mélasse et sucre roux.

- **Effet radical-balayage de DPPH :**

Les résultats de l'activité antiradicaire (figure n°50), montrent une activité anti radicalaire élevée dans la mélasse (78%), cette activité est trouvée aussi dans la matière première le sucre roux à une intensité plus faible (47%).

Résultat et discussion

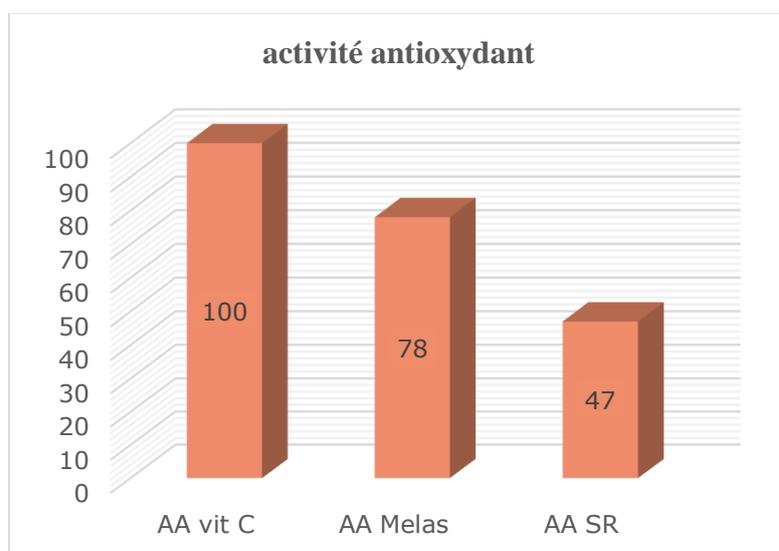


Figure N° 50: Histogrammes des activités antioxydantes de mélasse et de sucre roux

L'étude de l'activité antioxydante par les trois méthodes utilisées (TAC, FRAP et DPPH) a révélé que cette activité est considérable dans la mélasse, cette activité est due probablement à des molécules organiques présentes dans la mélasse et qui proviennent de la matière première le sucre roux. En effet **Blackburn, (1984)** a signalé que de nombreuses molécules organiques sont présentes dans la mélasse, certaines de ces molécules ont une activité antioxydante et peuvent après extraction, être valorisées comme antioxydants dans l'industrie pharmaceutique. Notamment dans l'industrie alimentaire. Les sucres industriels sont obtenus à partir de la canne à sucre (~ 70% du production) et la betterave à sucre. La canne à sucre contient des acides phénoliques, des polyphénols et des flavonoïdes. Ces composés ont également été trouvés dans des produits sucrés tels que le sirop ou la mélasse et dans les sucres bruns eux-mêmes (**Payet et al.,2005**). Plus récemment, Takara a isolé plusieurs composés phénoliques de Kokuto, et ont montré leurs activité antioxydante (**Payet et al 2005**). Le sucre étudié par payet a inhibé le piégeage radicalaire à un taux de 29% à une concentration de 10g/kg de produit, équivalent à 8,16 μM de TROLOX, d'autres variétés de sucres brun étudiés par le même chercheur, ont inhibé l'oxydation de DPPH par 69,3% et 60% ce qui correspond à une teneur de 22,6 et 19,5 μM de TROLOX.

L'intérêt pour les polyphénols, y compris les flavonoïdes et les acides phénoliques, a considérablement augmenté ces dernières années en raison de leurs propriétés biologiques, leurs effets antioxydants et leur rôle possible dans la prévention de plusieurs maladies chroniques impliquant le stress oxydatif. - oxydation des lipoprotéines de densité (LDL) Le

Résultat et discussion

procédé du sucre implique également le développement de composés réactionnels de Maillard tels que des macromolécules (mélanoidines, polymères) et des composés aromatiques hétérocycliques, qui sont fortement impliqués dans la couleur et l'arôme des produits sucrés. Depuis quelques années, les propriétés antioxydantes des composés de la réaction de Maillard ont été rapportées (Payet et al., 2005). Yanagimoto a montré dans plusieurs études que les composés aromatiques formés lors des réactions de Maillard présentent également une activité antioxydante intéressante (Payet et al., 2005).

IV.2.3. Destination de la mélasse à la production du bioéthanol :

Nous avons opté à la production du bioéthanol vu que la matière sucrée est la plus dominante dans la mélasse, et vue l'importance de ce produit dans diverses industries, notamment l'industrie alimentaire et la recherche scientifique.

- **Influence du pH initial et du Brix sur la production de l'éthanol par la levure :**

Le tableau n°22 présente les résultats de variation du pH initiale et du Brix° sur le taux de l'éthanol produits (Y), toutes les expériences ont été réalisés en double.

Tableau N° 22 : Table de la matrice expérimentale.

	x_1	x_2	X_1	X_2	y_1	y_2	\bar{Y}
1	-	-	3	5	5.7356	4.528	5.1318
2	-	+	3	15	0.345	0.377	0.3611
3	+	+	5	15	2.0125	2.511	2.264
4	+	-	5	5	7.0433	6.0373	6.5404

L'analyse des résultats est effectuée par un modèle linéaire, et calculés par le logiciel MINITAB 17. L'analyse de la variance ANOVA du modèle est celle représentée dans le tableau n°23

Résultat et discussion

Tableau N°23 : Analyse de la variance ANOVA

Analysis of Variance					
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	3	46,5328	15,5109	45,56	0,002
Linear	2	46,4107	23,2053	68,16	0,001
pH	1	5,4825	5,4825	16,10	0,016
Brix à t0	1	40,9282	40,9282	120,22	0,000
2-Way Interactions	1	0,1221	0,1221	0,36	0,582
pH*Brix à t0	1	0,1221	0,1221	0,36	0,582
Error	4	1,3617	0,3404		
Total	7	47,8945			

Les Coefficients ayant des valeurs dans la colonne p inférieures à 0,05 sont significatifs avec un seuil $\alpha = 0,05$. Le pH et le Brix° sont des effets principaux leurs valeurs de p est inférieure à 0,05. Par contre l'interaction Brix° pH est un facteur non significatif sa valeur de p est égale à 0,582 .

- **Signification des paramètres:**

Le diagramme de Pareto (figure n°52) montre que les deux paramètres étudiée (Brix et pH initial) influencent la production de l'éthanol, par contre l'interaction entre ces paramètres n'a pas d'influence sur la quantité du produit. Le Brix a une influence beaucoup plus élevée sur la quantité du produit; c'est le point le plus loin de droite de la droite d'ajustement d'Henry (figure n°51). Sa valeur est plus importante que les effets non significatifs qui pour leur part, sont généralement de valeurs plus faible et centrés autour de zéro, la moyenne de l'ensemble des effets.

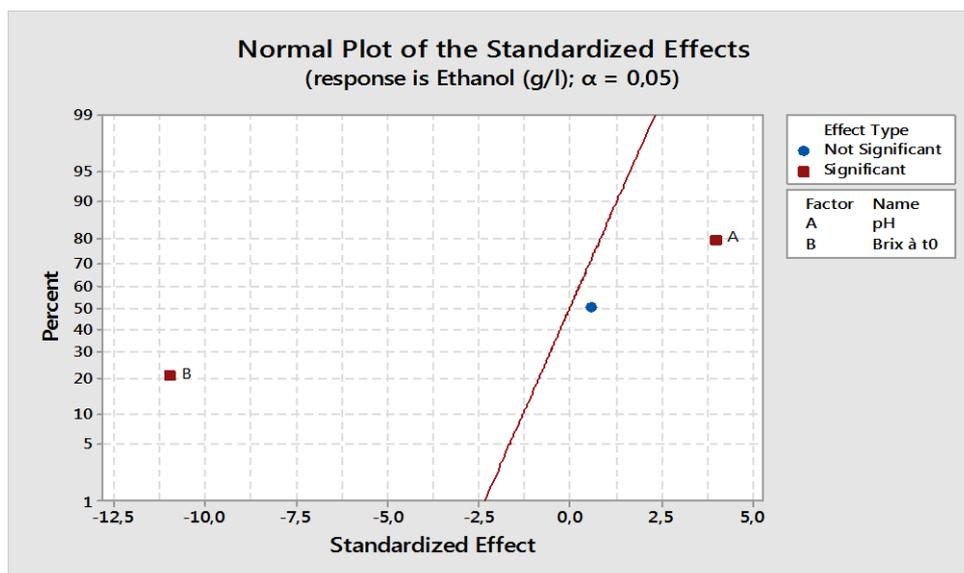


Figure N°51 Droite d'Henry.

Résultat et discussion

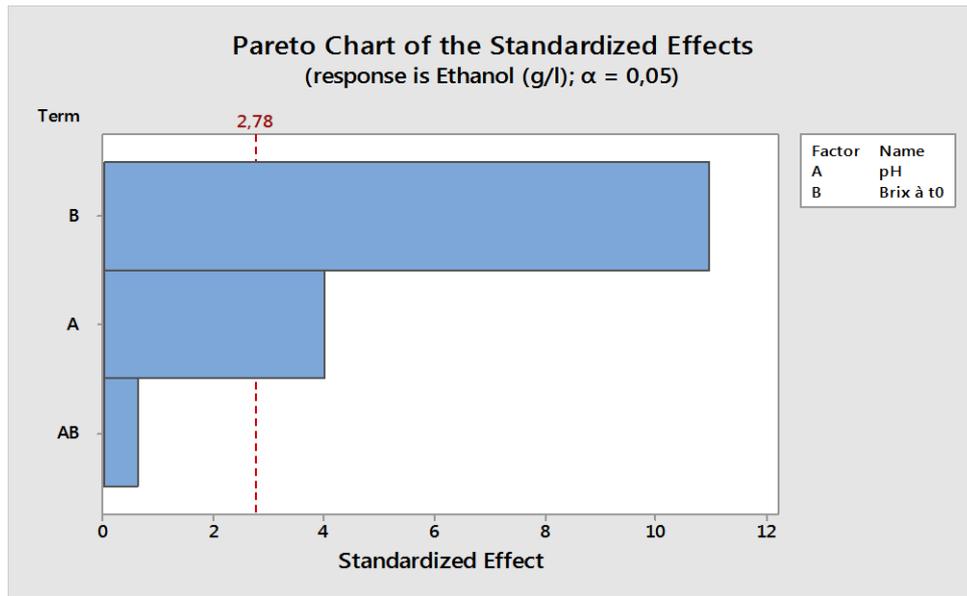


Figure N 52 : Diagramme de Pareto.

La figure des effets principaux (figure n°53) montre deux tracés des effets principaux l'un pour le pH initial et l'autre pour le degrés Brix: on constate que le degrés Brix a un effet principal plus important que le pH initial; ainsi la ligne joignant les réponses moyenne du Brix° a une pente plus raide que la ligne joignant les réponses moyennes reliant les paramètres maximum et minimum du pH.

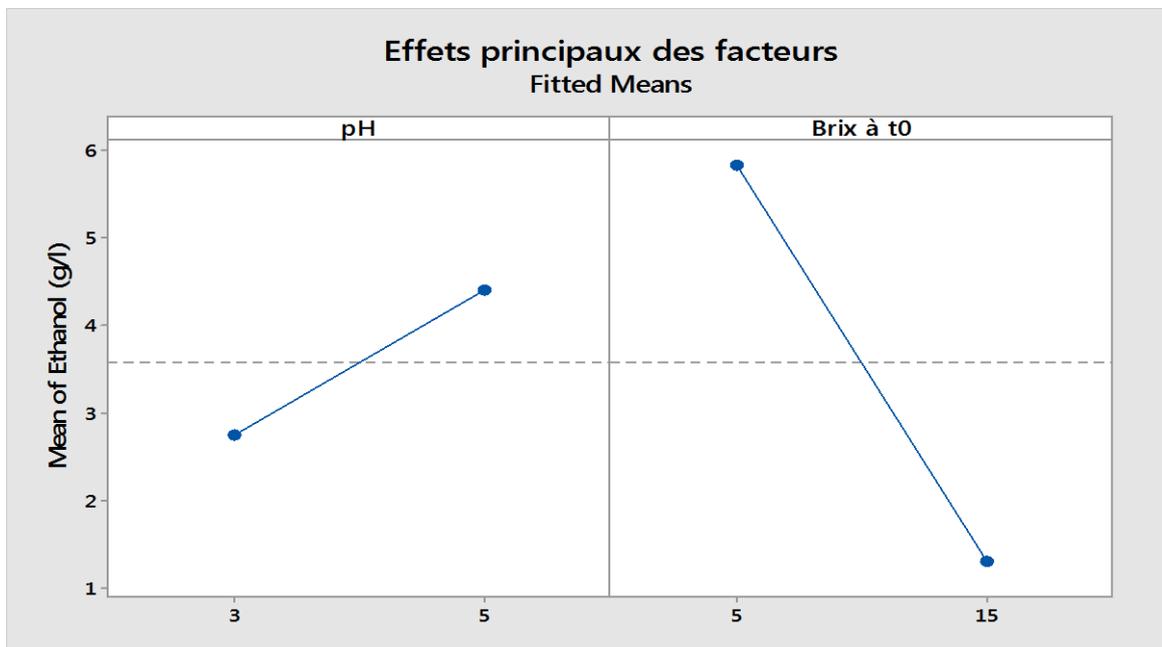


Figure N° 53: Diagramme des effets principaux

- **Estimation des valeurs des coefficients**

Les valeurs des coefficients en unités codées calculées par MINITAB 17 sont dans le tableau n°24.

Résultat et discussion

Tableau N°24 : Les valeurs des coefficients en unité codées

Term	Effect	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant		3,574	0,206	17,33	0,000	
pH	1,656	0,828	0,206	4,01	0,016	1,00
Brix à t0	-4,524	-2,262	0,206	-10,96	0,000	1,00
pH*Brix à t0	0,247	0,124	0,206	0,60	0,582	1,00

Le pH initial influence positivement le processus (valeur positive), alors que le brix l'influence négativement (valeur négative). Les valeurs des paramètres en unités naturelles sont illustrées par l'équation de régression prédite du modèle (equ), l'adéquation du modèle est vérifiée par le coefficient de régression R^2 qui est égal à 97,16%

Model Summary			
S	R-sq	R-sq (adj)	R-sq (pred)
0,583466	97,16%	95,02%	88,63%

$$\text{Ethanol (g/l)} = 5,77 + 0,581 \text{ pH} - 0,551 \text{ Brix} + 0,0247 \text{ pH*Brix (equ)}$$

Par ajustement du modèle l'équation ci dessus devient comme sui:

$$\text{Ethanol (g/l)} = 5,77 + 0,581 \text{ pH} - 0,551 \text{ Brix}$$

La figure n°54 montre que des les concentrations élevées en éthanol sont obtenues à des pH acides et à des valeurs faibles en brix (contour vert). Les faibles quantités en éthanol (contour bleu) sont obtenues quand le brix dépasse 10%.

Des valeurs optimales prédites sont illustrées par la figure n°55.

La valeur optimale prédite de la réponse (concentration en éthanol) est calculée par MNITAB, cette valeur est égale à 6,51 g/l dans un milieu à pH 4,5 et degrés brix égal à 5.

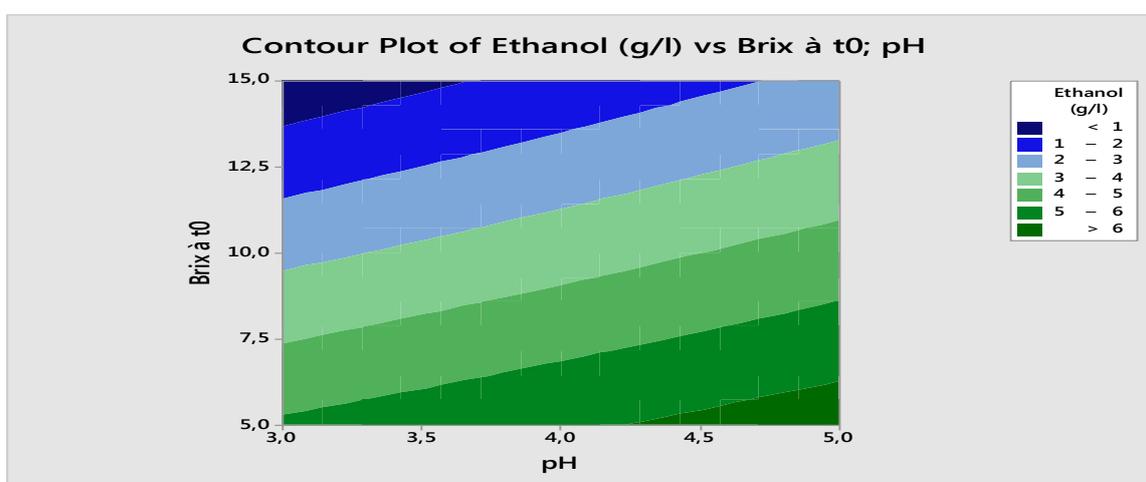


Figure N°54 : Tracé des contours de l'influence du Brix et pH sur la production de l'éthanol.

Résultat et discussion

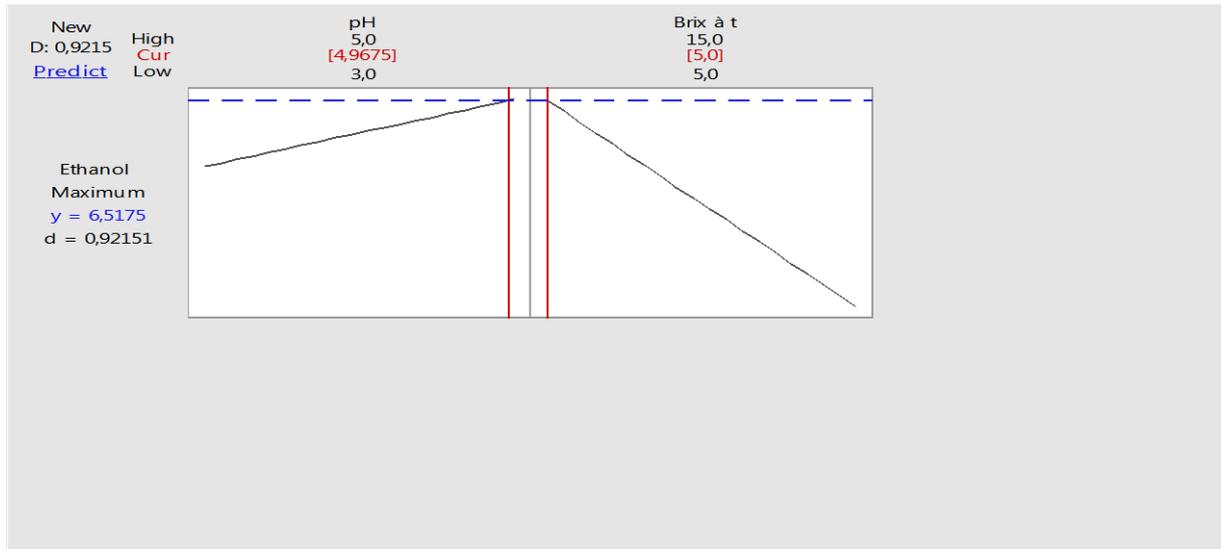


Figure N°55 : Optimisation de la production de l'éthanol.

Suivie de la fermentation alcoolique.

Tous les résultats des paramètres suivis pendant la fermentation alcoolique sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N°25 : les résultats des paramètres suivis pendant la fermentation

Temps / Paramètre	0 (heure)	24 (heure)	48 (heure)	72(heure)
pH	4.7	4.61	4.6	4.6
Brix° (%)	10.1	8.15	6.8	6.2
O₂ (mg/l)	16.52	13.20	12.54	8.8
Ethanol (g/l)	0.47	3.51	4.7	5.48
Densité (g/ml)	1.02	1.04	1.02	1.00
Matière sèche (%)	10.86	7.17	5.42	4.54
Acidité (°H₂SO₄)	1.5	1.88	1.9	1.9
Cellules (UC/ml)	2.82*10 ⁶	3.12*10 ⁶	5.6*10 ⁶	5.6*10 ⁶
SRe (g/l)	0.012	0.011	0.011	0.011

Résultat et discussion

Le pH du milieu de fermentation diminue légèrement après 24 heures (tableau n°25). En parallèle, une faible augmentation dans l'acidité est signalée, cela est du probablement à la production de certains acides organiques comme l'acide acétique, lactique ...) comme il est indiqué dans la littérature. (**Riess, 2012**)

La production de l'éthanol évolue en fonction du temps (figure n°57). La concentration en éthanol dans le milieu augmente rapidement après 24 heures, elle atteint 5,48 g/l après 72 heures. La production en éthanol est accompagnée par une diminution brutale du Brix après 24 heures et d'une croissance cellulaire rapide. L'évolution de ces trois paramètres se rapproche dans leurs allures. (Figure n°58). La courbe de croissance des levures se caractérise par une phase de latence qui a duré 24 heures, suivie par une phase d'accélération de croissance dont la vitesse a ralenti après 48 heures début de la phase stationnaire. Le taux néperien de croissance $\mu=0,01$.

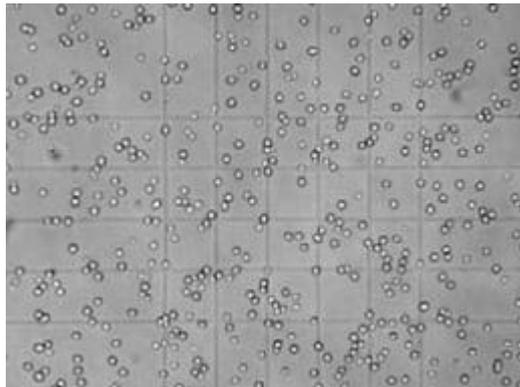


Figure N° 56 : Observation microscopique des levures sur la cellule de Malassez (objectif n° 40)

La production d'éthanol est accentuée pendant la phase de latence ainsi que la réduction du degré Brix. (Figure n°57).

Résultat et discussion

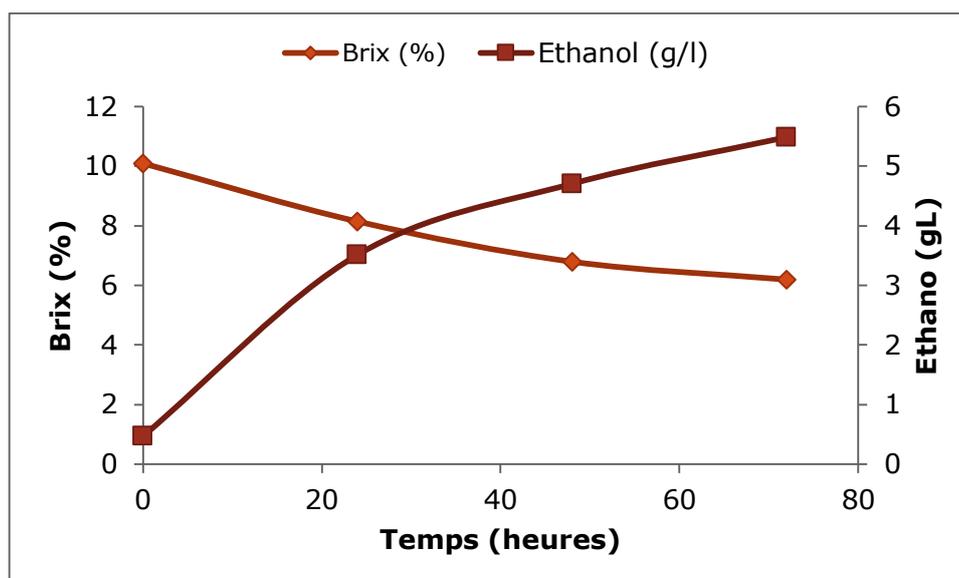


Figure N°57: Evolution de l'éthanol et du Brix pendant la fermentation alcoolique.

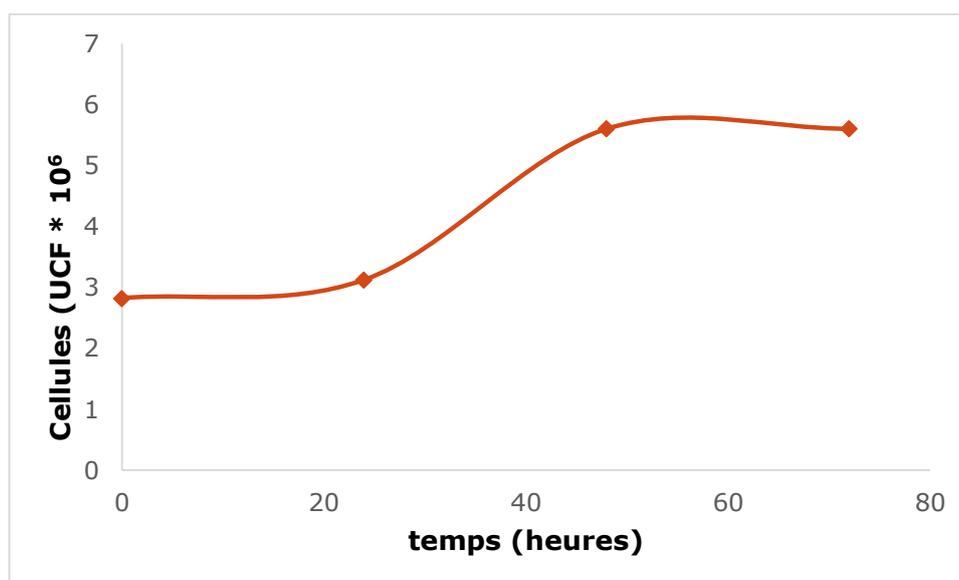


Figure N°58: Evolution des levures pendant la fermentation alcoolique

La concentration en sucres réducteurs déterminés d'après la courbe d'étalonnage de glucose (figure n°59), demeure pratiquement stable pendant le processus (tableau n°25).

Cela signifie probablement que le saccharose est le métabolite dégradé par les levures, cela est dû à la faible concentration des sucres réducteurs initialement présents dans le milieu de fermentation, comme il a été déjà signalé la concentration des sucres réducteurs dans la mélasse est de 2.03%.

Résultat et discussion

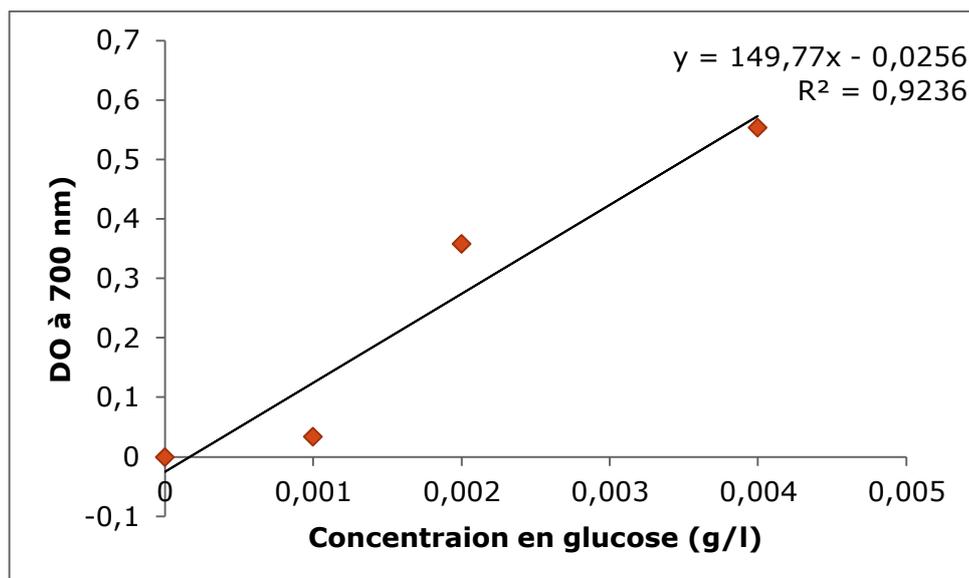


Figure N°59 : Courbe d'étalonnage de glucose.

La matière sèche initiale dans le milieu de fermentation est de 10,86, elle est proche du degré Brix. Durant la fermentation, nous avons remarqué une diminution dans le pourcentage de la matière sèche, (figure n°60). Cette diminution est rapide pendant les premières 24 heures. Peut être que la matière sèche perdue correspond à la matière organique volatile comme le CO₂ qui accompagne la production de l'éthanol. Par ailleurs une diminution brutale de l'oxygène dissout est remarquée pendant ce temps.

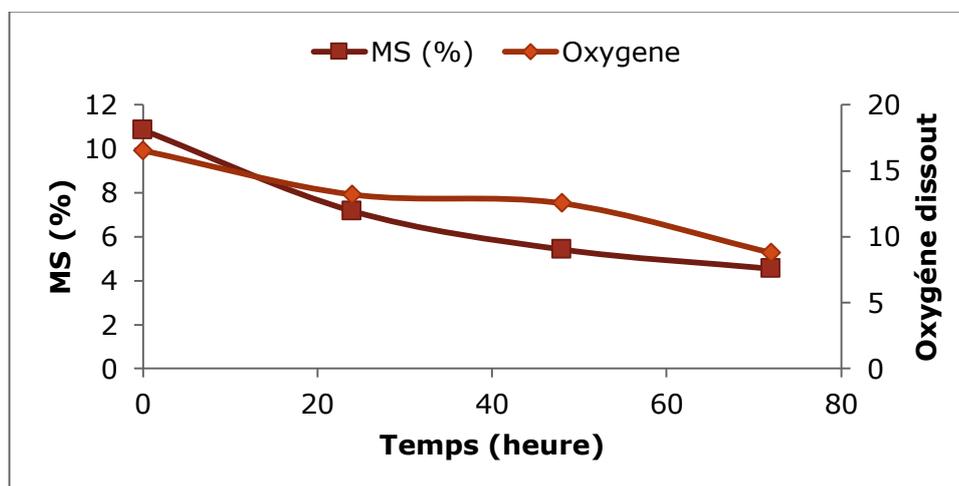


Figure N° 60: Variation de la matière sèche et l'oxygène dissout en fonction du temps de fermentation

Les acides aminés assimilables sont exprimés par l'indice de formol qui a été déterminé à la fin de fermentation, il est de l'ordre de 2,2 mg d'azote assimilable par litre.

Résultat et discussion

IV.2.4. Analyse du bioéthanol produit :

a. La densité : La densité de l'éthanol distillée d_{20}^{20} à 85°C, mesurée par pycnométrie est de 0.87, cette valeur est identique à celle mesurée par le densimètre plongeur. Cependant l'éthanol absolu se caractérise par une densité de 0.789. Probablement que cette différence est due aux impuretés comme les alcools supérieurs ou encore l'eau qui forme un mélange azéotropique avec l'éthanol.

Dans l'industrie on utilise la technique au tamis moléculaire permettant de séparer l'éthanol de l'eau en fonction de la différence de taille existant entre ces deux molécules. (**Riess, 2012**)

b. L'odorat du bioéthanol : l'odeur du bioéthanol produit par voie fermentaire a été senti par quinze personnes, a fin de distinguer la différence entre l'éthanol purifié est l'éthanol absolu ramené de la maison *Sigma Aldrich*. Ces personnes n'ont pas senti une différence entre les odeurs des deux produits.

c. Dosage de l'éthanol par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

L'éthanol est dosé par chromatographie phase gazeuse dans trois distillats: un distillat "D1" issus par distillation dans le rotavapor à 45°, qui a été redistillé à 85°C par hydro distillation celui la représente les deux autres échantillons de distillats "D2" et D3".

Le chromatogramme de D1 n'a pas montré une présence d'éthanol (figure n°61), par contre les chromatogrammes de D2 et D3 ont révélé un pic majoritaire de l'éthanol (figure n°62 et n°63). Sa concentration varie de 98.77% à 99.15% dans les distillats.

Un autre pic correspondant à l'acide acétique a été identifié, sa concentration dans les distillats varie de 0.02% à 0.03%. D'autres pics ont apparus en quantités infimes qui ne sont pas identifiés par l'appareil.

Résultat et discussion

Tableau N°26 : Résultats de l'analyse chromatographiques de l'éthanol.

Résultat de la CPG en (%)			
PIC N°	Dénomination	D2	D3
01	Ethanol	98.77 %	99.15 %
02	Acide Acétique	0.02 %	0.03 %
03	Non identifié	0.25 %	0.18 %
04	Non identifié	0.66 %	0.46 %
05	Non identifié	0.21 %	0.15 %

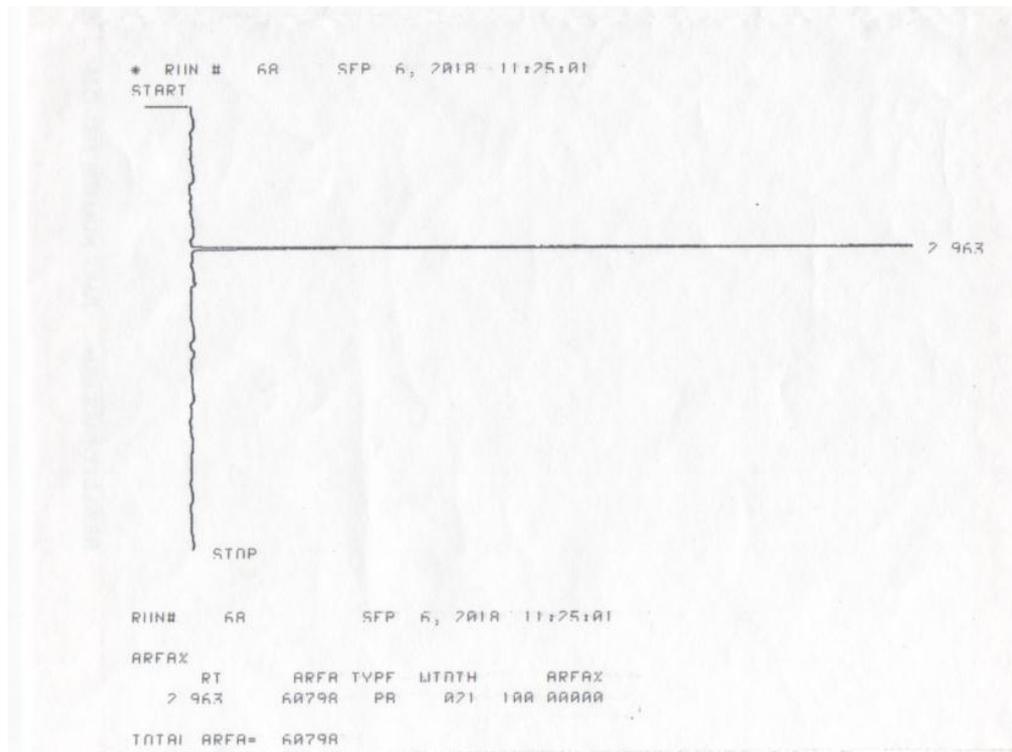


Figure N°61: Chromatogramme D1

Résultat et discussion

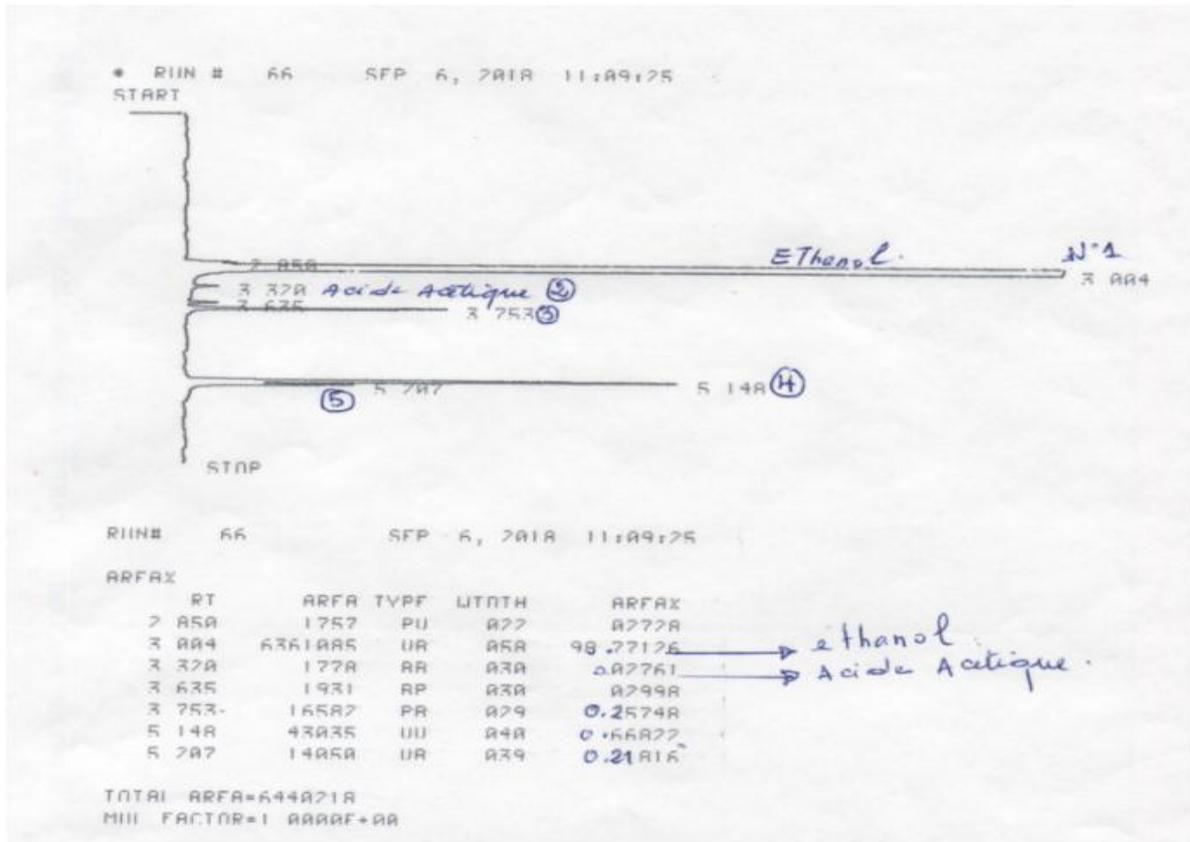


Figure N°62: Chromatogramme D2

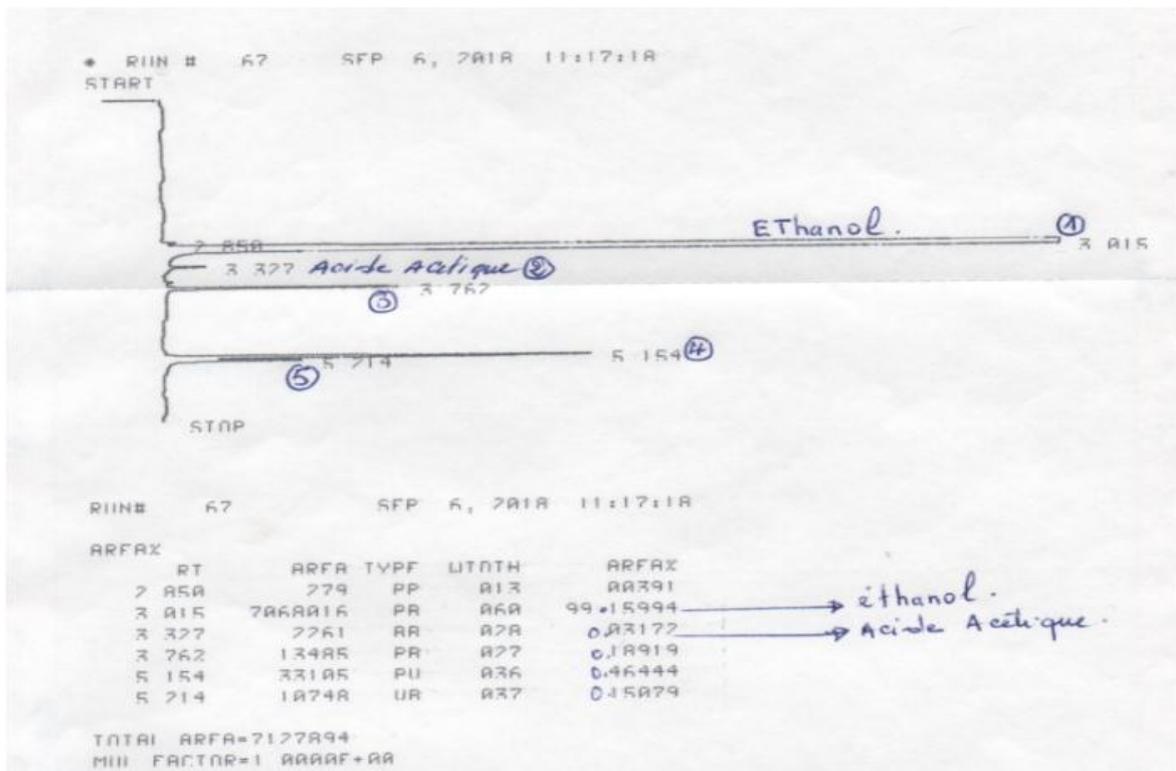


Figure N°63: Chromatogramme de D3

IV.2.5. Essai de production du vinaigre par fermentation acétique du bioéthanol produit.

Dans cette approche nous essayons de valoriser la mélasse pour la production du vinaigre par double fermentation. Après la fermentation alcoolique nous avons conservé une partie du mout à l'air dans l'espérance de développer naturellement des bactéries acétiques agent de la bio oxydation de l'éthanol et de les isoler sur leurs milieux sélectifs.

Les résultats de l'isolement des bactéries acétiques (figure n°64) n'ont pas révélé la présence de ces bactéries dans le mout; la couleur bleu verte du milieu de carr n'a pas viré vers le jaune (signe d'oxydation de l'éthanol présent dans le milieu). Or, sur le milieu des bactéries acétiques des colonies blanches ont apparues, l'identification de ces colonies par le MALDI TOF MS n'était pas possible. (Annexe n°19). Le spectre de masse obtenu est celui de la figure n°65.

La mise en culture de ces bactéries dans le milieu sélectif des bactéries acétiques à 30°C avec une agitation 200rpm, a fait baisser le pH de 7,3 jusqu'à 6,13. D'autres analyses complémentaires que nous souhaiteront les réaliser en perspectives pour identifier l'acide organique produit responsable du changement de ce pH.



Figure N°64: Les résultats de l'isolement (sur milieu de carr et sur milieu des bactéries acétiques)

Résultat et discussion

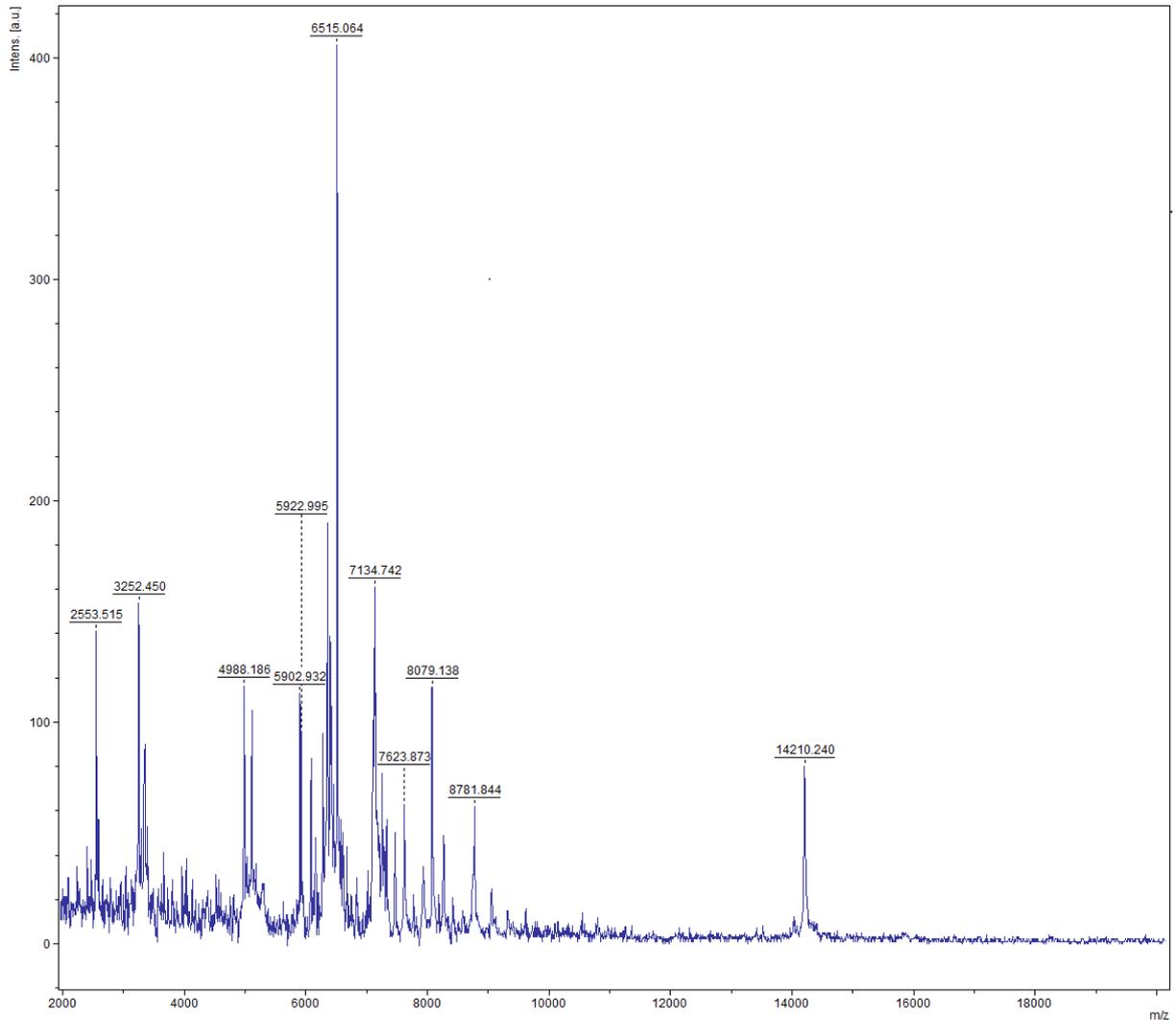


Figure N°65: Spectre de masse de l'analyse des microorganismes par MALDI TOF MS.

IV.2.6. Essais de production d'un sirop de glucose par inversion enzymatique du saccharose

Les résultats des analyses polarimétriques du saccharose destinée à Coca-Cola, avant et après hydrolyse sont représentés dans le tableau n°27

Tableau N° 27 : Etude de l'inversion du saccharose par polarimétrie.

	Avant inversion	Après inversion
α	4,5	-2,24
$[\alpha]$	66.17°	112°

Résultat et discussion

L'angle de rotation spécifique du saccharose $[\alpha]$ correspond est proche à celui cité dans la littérature qui +66, 5, cela signifie que le sucre de GRD LA BELLE est pur, après hydrolyse enzymatique, le pouvoir rotatoire a changé et pris une valeur de 112°. tableau n°27.

La concentration en sucres réducteurs apparus est représentée par le tableau n°28.

Tableau N° 28: Inversion de saccharose par de l'invertase.

Temps (min) \ Concentration initiale	5	10	15	20
Conc 1: $1.25 \cdot 10^{-3}$ (g/l)	$7.46 \cdot 10^{-3}$	$8.97 \cdot 10^{-3}$	$9.37 \cdot 10^{-3}$	$6.81 \cdot 10^{-3}$
Conc2: $3.47 \cdot 10^{-3}$ (g/l)	$9.71 \cdot 10^{-3}$	0.11	0.11	0.11
Conc3: $6.25 \cdot 10^{-3}$ (g/l)	0.11	0.11	0.11	0.12

Le suivi de l'inversion de saccharose dans trois différentes concentration (tableau n°28) a montrées une augmentation du taux de sucre réducteur en fonction du temps qui est du à l'activité enzymatique de l'invertase sur le saccharose (figure n° 66)

Le taux des sucres réducteurs est plus élevé dans les solutions de plus fortes concentrations en sucre, l'apparition des groupements réducteurs est rapide dans la solution la plus concentrée en sucre (conc3) la vitesse de réaction devient stationnaire après 5 minute pour conc3 et après 10 min pour conc 2.

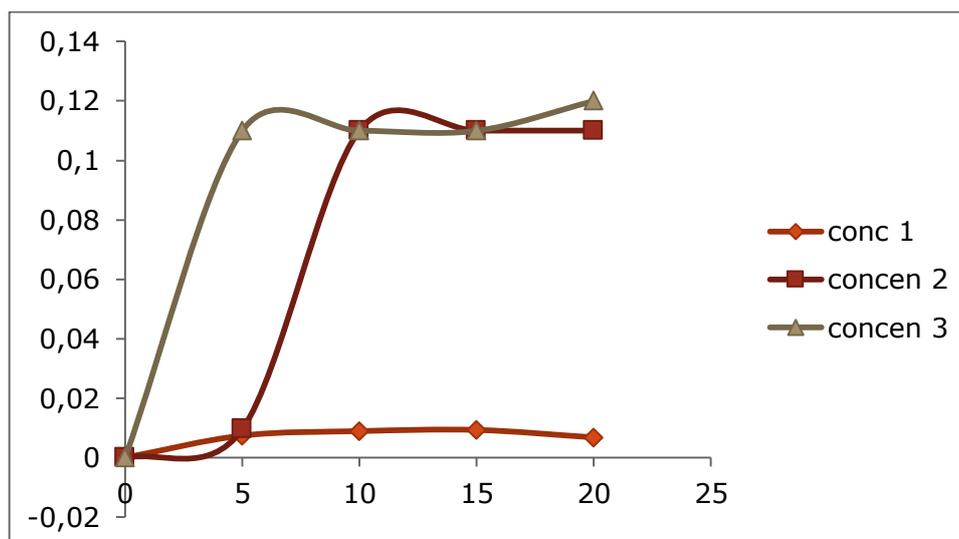


Figure N° 66: Courbes de la concentration de sucre réducteur en fonction du temps après inversion par de l'invertase.

Résultat et discussion

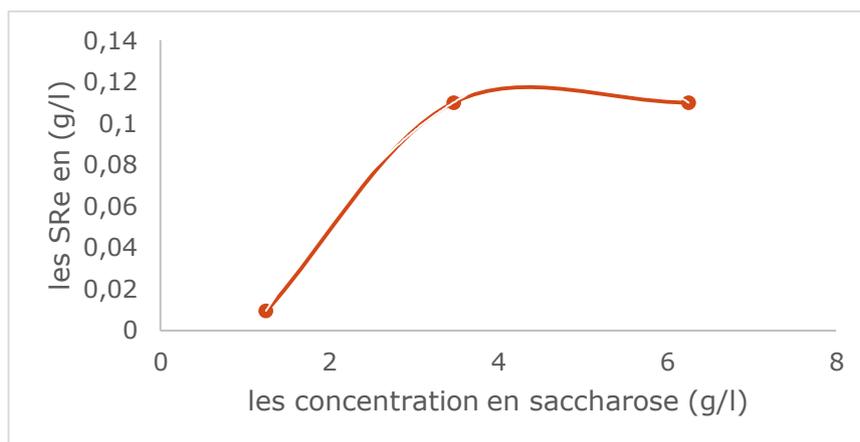


Figure N° 67: Courbe de la concentration de sucre réducteur en fonction de la concentration de saccharose

IV.2.7. Application de l'invertase à l'hydrolyse du saccharose dans la mélasse.

Dans les perspectives de produire un sirop de glucose à partir de la mélasse nous avons appliqué l'invertase pour l'hydrolyse enzymatique du saccharose de la mélasse. Par conséquent l'hydrolyse de ce sucre cristallisable permet un meilleur stockage de la mélasse en évitant sa cristallisation, et permet de réduire sa viscosité (tableau n°29)

Le temps d'écoulement de la mélasse est mesuré dans un viscosimètre Oswald à 25°C (Annexe n°17)

Tableau N°29: Résultat de l'application de l'invertase dans la mélasse.

	essai	Mélasse + invertase	Mélasse
Temps d'écoulement	1	19s	1 min20s
	2	18s	1 min22s

Le tableau n° 29 montre que le temps d'écoulement de la mélasse qui contient l'invertase (18s) est plus rapide à celui de la mélasse pure (1 min 22 s).

Cette vitesse est due à l'inversion du saccharose de mélasse en glucose et fructose par l'action de l'invertase. Ces propriétés acquises de la mélasse vont améliorer son stockage et faciliter sa commercialisation, Reste à appliquer ce nouveau produit de mélasse à sucre invertis en viennoiserie ou d'autres domaines de l'industrie alimentaires.

Conclusion

Conclusion :

Le stage pratique que nous avons effectué au niveau de la raffinerie de sucre GRD LA BELLE a été Pour nous, d'une grande utilité, car il nous a permis d'une part, de nous initier et nous adapter au milieu professionnel, et d'acquérir des connaissances sur le raffinage du sucre roux, et notamment, le processus de fabrication et les analyses physico-chimiques et microbiologique. D' autre part de mettre en œuvre nos connaissances théoriques acquises au cours de notre formation à la faculté des sciences de l'Ingénieur.

Dans l'ensemble, les résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques effectuées au sein du laboratoire de l'unité, se sont révélés globalement conformes aux normes, Le sucre produit par la raffinerie GRD LABELLE est de bonne qualité.

Le sucre LABELLE est raffiné selon des spécifications prédéterminées par la société et selon le contexte réglementaire et normatif pour maitrise de la sécurité alimentaire, protection du consommateur (hygiène, ISO 22000, ISO 9001) et assurer la satisfaction du client pour pouvoir résister à la concurrence et garder sa place sur le marché national.

Le présente étude est réalisée également dans le laboratoire de génie des procédé pour but de valoriser la mélasse issue de la raffinerie qui se caractérise par sa couleur brune, d'odeur agréable, elle présente par ces caractéristiques une forte appétence. Les analyses physico chimiques de la mélasse ont montré sa teneur élevée en saccharose et sa teneur faible en sucres réducteurs. Cette caractéristique nous a conduit à utiliser la mélasse de la raffinerie comme matière première pour produire du bioéthanol par voie fermentaire (fermentation alcoolique). Cette biotransformation nous a produit 5,48g/l d'éthanol après 72 heures.

L'éthanol produit est caractérisé par une densité de 0,87 et avec une odeur distinctive de l'éthanol. Une analyse par CPG a révélé un pic majoritaire de l'éthanol .Sa concentration varie de 98.77% à 99.15% dans les distillats.

D'autre valorisation de mélasse était souhaitable, c'était la production de l'acide acétique (vinaigre) en utilisant des agents biologique qui sont les bactéries acétique et de leur substrat l'éthanol produit par fermentation alcoolique. Mais les résultats de l'isolement des bactéries acétiques n'ont pas révélé la présence de ces bactéries dans le mout et l'identification de ces colonies par le MALDI TOF MS n'ont donné aucune identification.

Encore, dans le présent travail la production d'un sirop de glucose par inversion enzymatique du saccharose était fait mais il serait souhaitable de compléter l'étude par une

Conclusion

optimisation des différents paramètres liés à l'inversion de saccharose à fin de les appliquer sur la mélasse; aussi qu'une analyse des sucres par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) pour voir le profil des sucres et les identifier dans la mélasse, vu que cette dernière contient majoritairement le sucre saccharose qui peut être une matière première pour produire le sirop de glucose utilisé en confiserie et viennoiserie. Dans cette approche l'inversion de saccharose de mélasse peut être une solution utilisée en industrie sucrière pour pallier le problème de cristallisation et stockage de la mélasse.

Par ailleurs l'étude de l'activité antioxydante par les trois méthodes utilisées (TAC, FRAP et DPPH) a révélé une activité antioxydante considérable dans la mélasse (78 %) des antioxydants est le résultat obtenu par le test de DPPH) qui peuvent après extraction, être valorisés comme antioxydants dans l'industrie pharmaceutique. Notamment dans l'industrie alimentaire.

Enfin la mélasse de l'unité de raffinerie GRDLABELLE est de bonne qualité, par sa richesse en matière carbonée et substances nutritives, elle peut être exploitée dans divers domaines en particulier dans l'industrie alimentaire comme matière première pour la production de divers métabolites à haute valeur ajoutée.

Référence bibliographique :

ACS : American Chemical Society: <https://www.acs.org/content/acs/en/molecule-othewee>

Afla, A. (2005). Extraction et raffinage du sucre de canne), 5,31-41

Aldiguier A. S., Alfenore S., Cameleyre X., Goma G., Uribelarrea J. L., Guillouet S.E. et Molina-Jouve C., 2004, Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behavior in ethanol bio-fuel production, Bioprocess Biosyst. Eng. 26 p. 217-222.

Alfenore S., Molina-Jouve C., Guillouet S.E., Uribelerrea J.L., Goma G. et Bendadis L., (2002),Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by vitamin feeding strategy during feed-batch process, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60, p. 67-72.

Amekhchoun, M (2014). Réduction du taux d'humidité et le taux de sucre dans les tourteaux par la méthode des plans des expériences. FST, tunisie.

Audigé , C., Dupont, G., Zonsain, F., (1982).Principe des méthodes d'analyses biochimique .Paris, Ed, 190p.

Bernard M., Chapoutot P., Chatelet M., Gueroult M., Jubert M., Morel d'Arleux F., Taccard M., Mariani M., Tierny M., 1991. Synthèse sur : la mélasse. Comité des sousproduits – RNED Bovins, Juillet : p19.

Boucherba, N. (2015). Valorisation des résidus agro-industriels. Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, Algerie.

Blackburn,F.(1984).sugar can .Ed. Longman, London and New York. sousproduits – RNED Bovins, Juillet : p19.

Christon , Le Dividich (1978). Utilisation de la mélasse de canne à sucre dans l'alimentation du porc : essai d'interprétation des acquisitions récentes. Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences, 27 (2), pp.267-288.

Corcodel L et Hoareau .(2007).la bioraffinerie de canne à l'horison 2020 ,CERF.

De Miniac ,M. 1988, Conduite des ateliers de fermentation alcoolique de produits sucriers (mélasse et égouts), Ind. Aliment. Agric Juillet/Aout, p. 675-688.

DECLoux ,M. (2002) : Procédés de transformation en sucrerie (partie 1). In technique de l'ingénieur. Ed Paris, p. 21.

Référence bibliographique

DECLoux, M. (2003) : Procédés de transformation en sucrerie (partie 2). In technique de l'ingénieur, p. 12-16.

DECLoux, M. (2012),procéder de transformation en sucrerie (partie 1) : Technique de l'Ingénieur,F6150.

Demeyer A., Jacob F., Jay M., Menguy G., Perrier J. (1982).La conversion du bioénergétique rayonnement solaire et les biotechnologies. Edition Technique & Documentation, Paris, pp.187-212.

Dragone G., Silva D. P. et de Almeida e Silva J. B., 2004, Factors influencing ethanol production rates at high-gravity brewing, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 37, p. 797-802.

Dumbrepatil A, Adsul M, Chaudhari S, Khire J, Gokhale D. Utilization of molasses sugar for lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* mutant Uc-3 in batch fermentation. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74:333–335. doi: 10.1128/AEM.0159507.

DUROSIER J. S. (1979). Etude de la production de la canne –à – sucre dans la plaine de Léogâne, mémoire FAMV, 40 p.

F. Rouessac et A. Rouessac. Analyse Chimique. (2004). Méthodes et techniques instrumentales modernes, 6ème édition (Dunod).

Farih,K.(2015).suivi des paramètres Physico-chimique de la mélasse au sien de la société LESAFFRE Maroc. FST FES Maroc.

Georges,P.(2005).Contribution a la conaissance chimique des cires de canne à sucre de Guadeloupe.Thèse de doctorat.Université des Antilles-guyane

Goupy,J.(2006).les plans d'experiences .revue modulad pp74-78.

Grisales Palacio V.H. (2007). Modélisation et commande floues de type Takagi-Sugeno appliquées à un bioprocédé de traitement des eaux usées. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier,Toulouse, France.

Heggart H.M., Margaritis A., Pilkington H., Stewart R.J., Dowhanick T.M. et Russell I., (1999), Factors affecting yeast viability and vitality, *MBAA technical quarterly* 36, p. 383-406.

Référence bibliographique

- Ingledeu ,W.M.(1999).**Alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae*: a yeast primer, The alcohol textbook: a reference for beverage, fuel and industrial alcohol industries, Nottingham University Press, Nottingham, UK, p. 49-87.
- J.-C. Ogier, D. Ballerini, J.-P. Leygue, L. Rigal et J. Pourquié. (1999).** Production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. Revue de l'IFP, Vol. 54 No. 1, pp. 67-94.
- JAMES C. et al (1993).** Canne Sugar Handbook, p55.
- Jean-Michel B. (2004),** Gestion des déchets. 3éd. DUNOD, Paris, p. 448.
- Jones R.P. et Greenfield P.F., (1984).** A review of yeast ionic nutrition – Part 1: Growth and fermentation requirements. Process Biochem. 19, p. 48-60.
- Manyri L.(2005).** Analyse automatique d'images de populations microbiennes. Thèse de Doctorat, Institut National des sciences Appliquées de Toulouse, France.
- MCG (Manuel de Connaissances Générales). (2008):** CEVITAL spa.
- Oyaizu, M. (1986).** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jpn. J. Nutr, 44: 307-315.
- Paturau,J.M.(1969).**By-products of the cane sugar industry, Elsevier Publishing Company,Amsterdam.
- Payet,B. Shum Cheong Sing, A.,Samadja, J.(2005).**Assessment of antioxidant activity of cane brown sugars by ABTS and DPPH radical scavenging assays: Determination of their polyphenolic and volatile constituents.J.Agric.food Chem.53,6pp.
- Pislor,E.(2011).**extraction d'un acide organique issus de l'industrie de canne à sucre thèse doctorat de l'université de Toulouse.
- Poilpré, E. (2002).** Mécanisme d'adaptation rapide de en métabolisme oxydatif : implication des sucres de réserves et de la capacité respiratoire. Thèse INSA Toulouse. pp.187-212 (1982).
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal Biochem, 269: 337–341.
- Queinnec ,I.(2000).** Contribution à la commande de procédés biotechnologiques : application au traitement biologique de la pollution. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse,France.
- Rein, P. (2007).** Cane Sugar Engineering. Bartens 526 pp.

Référence bibliographique

Riess, J.(2012).Intensification de brique « Fermentation Alcoolique » De substrats betteraviers (et autre substrats) pour la production d'éthanol. Thèse de Doctorat,université de Toulouse,France .

ROMAIN J., THOMAS C., PIERRE S., GERARD B. (2007) : Science des aliments. Ed . Tec et Doc Lavoisier, p. 449.

ROUSSEAU G. (2002) : La sucrerie, une affaire de macromolécules. In les macromolécules. AVH Association, 9 th Symposium, Reims, p 47-50.

Saez ,C. 1986. Etude de paramètres de la fermentation alcoolique. Application à l'élaboration de pétillant de raisin. Thèse INSA Toulouse.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. (1998): A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. J. Sci Food. Agric, 76: 270–276.

SCF :Société Chimique de France: <http://www.societechimiquedefrance.fr/ethanol>.

Seidali M., Tchobo F. P., Ayessou N. C., Maoudoumyae T., Ndoutamia G., Akissioe N., Duosso J.,2016 . Evaluation de la qualité physicochimique des résidus du complexe agroindustriel de Panda Sarh (Tchad). Larhyss Journal, ISSN 1112-3680, n°25, pp. 203-218.

Singleton,V.L .Rosi ,J.A (1965). Colometric of total Phénolics with Phosphomolybdic-Phosphotungtic A cid Reagent. American Journal. Enology and Viticulture. 144 - 158 (Am. J. Enol. Vitic. January 1965.

Taccard M., Mariani M., Tierny M., 1991. Synthèse sur : la mélasse. Comité des Sous produits – RNED Bovins, Juillet : p19.

Vitolo,M. (1996).“Production of ethanol and invertase by *S. cerevisiae* grown in blackstrapmolasses,” in Proceedings of the 7th Biomass for Energy and the Environment, pp. 1477–1481,PergamonPress, Copenhagen, Denmark.

Yokota,M. et Fragresoni,S.(1971) , The major volatile composition of can molassese ,J.Fd, Sci, 86,1991,1094.

Annexe

Annexe N°1 : sensibilisation permanente sous forme briefing dans l'unité

	Lettre d'orientation et d'engagement liés à l'hygiène et à la sécurité			Imprimé
Site : GRD LABELLE	Date : 01/06/2016	Version : 1.0	Ipm-QSE-191	Page 1 sur 1

Nom et Prénom : DAHMANI YASMINA Date d'entrée : 06.10.2018
 Fonction : _____ Structure : _____

Le travailleur affecté à doit connaître le lieu et les risques liés à son poste de travail. Toute violation aux règles liées à l'hygiène et à la sécurité exposera le travailleur à des actions disciplinaires, suivant le règlement intérieur de GRD la belle.

Description du site de travail

- L'historique
- Les intervenants

Formation	Briefing
- Orientation liée à l'hygiène et à la sécurité - Plan d'urgence	- Sensibilisation permanente sous forme de briefing

La gestion des sous-traitants et la co-activité

- Règles générales
 - Obéir à toutes les consignes de sécurité
 - Respect du règlement de sécurité du client

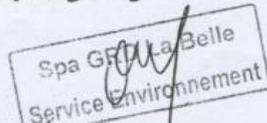
A faire		A ne pas faire
1- Le port des EPI - Chaussure de sécurité - Lunette de protection - Gants de protection	2- Le port des EPI spécifique - Protection auditive (stop bruit) - Masque anti-poussière - Ceinture de sécurité - Combinaisons chimiques	Entrée dans une zone non autorisée.
3- Respecter les zones protégées par la signalisation et prendre garde à la circulation. 4- Utiliser le matériel adapté et prévu pour la tâche. 5- Maintenir propre votre lieu de travail et évacuer régulièrement vos déchets. 6- Maintenir ou remettre en place les protections collectives.		

- **Rendre compte**
 - Signaler tous les incidents, accidents de travail même bénin ;
 - Rappporter rapidement et clairement toutes les anomalies, dangers pouvant porter atteinte à la sécurité du personnel ou aux installations au responsable hiérarchique.

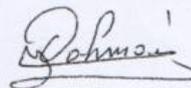
Je déclare avoir compris toutes les informations reçues et je suis tenue de respecter toutes les règles liées à l'hygiène et à la sécurité présentées ci-dessus tant que je fais partie de cette entreprise conformément à l'article 21 de la loi 88 07 du 26 Janvier 1988.

Emetteur de l'orientation

Mr
 Le : 06.10.2018


 [Tapez un texte]

Lu et approuvé
 Signature :



Annexe

	Lettre d'orientation et d'engagement liés à l'hygiène et à la sécurité			Imprimé
Site : GRD LABELLE	Date : 01/06/2016	Version : 1.0	Ipm-QSE-191	Page 1 sur 1

Nom et Prénom : **BAKASARA** Date d'entrée : **06.10.2018**
 Fonction : Structure :

Le travailleur affecté à doit connaître le lieu et les risques liés à son poste de travail. Toute violation aux règles liées à l'hygiène et à la sécurité exposera le travailleur à des actions disciplinaires, suivant le règlement intérieur de GRD la belle.

Description du site de travail

- L'historique
- Les intervenants

Formation	Briefing
- Orientation liée à l'hygiène et à la sécurité - Plan d'urgence	- Sensibilisation permanente sous forme de briefing

La gestion des sous-traitants et la co-activité

- Règles générales
 - Obéir à toutes les consignes de sécurité
 - Respect du règlement de sécurité du client

A faire	A ne pas faire
1- Le port des EPI - Chaussure de sécurité - Lunette de protection - Gants de protection	Entrée dans une zone non autorisée.
2- Le port des EPI spécifique - Protection auditive (stop bruit) - Masque anti-poussière - Ceinture de sécurité - Combinaisons chimiques	
3- Respecter les zones protégées par la signalisation et prendre garde à la circulation. 4- Utiliser le matériel adapté et prévu pour la tâche. 5- Maintenir propre votre lieu de travail et évacuer régulièrement vos déchets. 6- Maintenir ou remettre en place les protections collectives.	

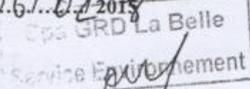
- Rendre compte
 - Signaler tous les incidents, accidents de travail même bénin ;
 - Rapporter rapidement et clairement toutes les anomalies, dangers pouvant porter atteinte à la sécurité du personnel ou aux installations au responsable hiérarchique.

Je déclare avoir compris toutes les informations reçues et je suis tenue de respecter toutes les règles liées à l'hygiène et à la sécurité présentées ci-dessus tant que je fais partie de cette entreprise conformément à l'article 21 de la loi 88 07 du 26 Janvier 1988.

Emetteur de l'orientation

Mr

Le : **06.10.2018**



[Tapez un texte]

Lu et approuvé
Signature :

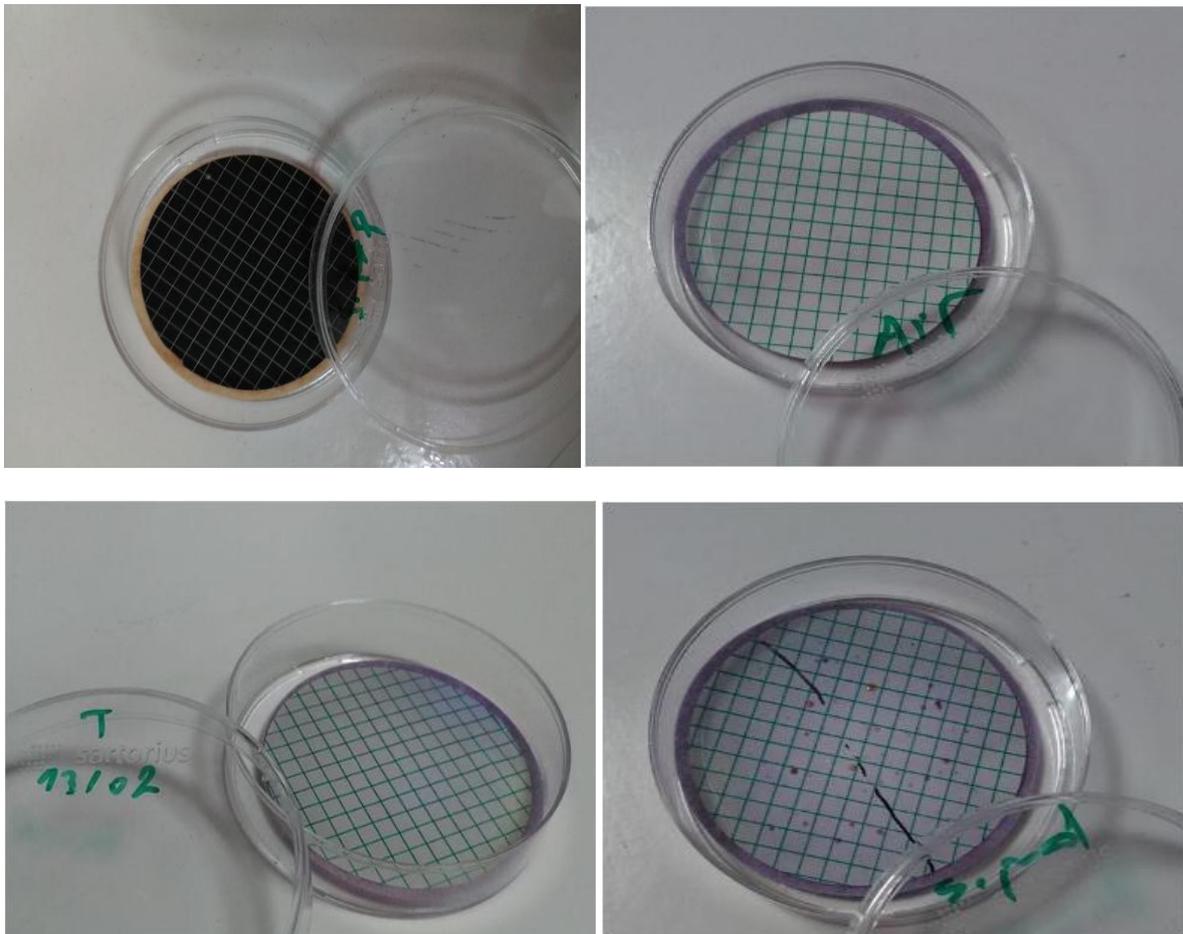


Annexe

Annexe N°2 : photo de chausseur de sécurité, Gillet et casque de protection dans l'unité

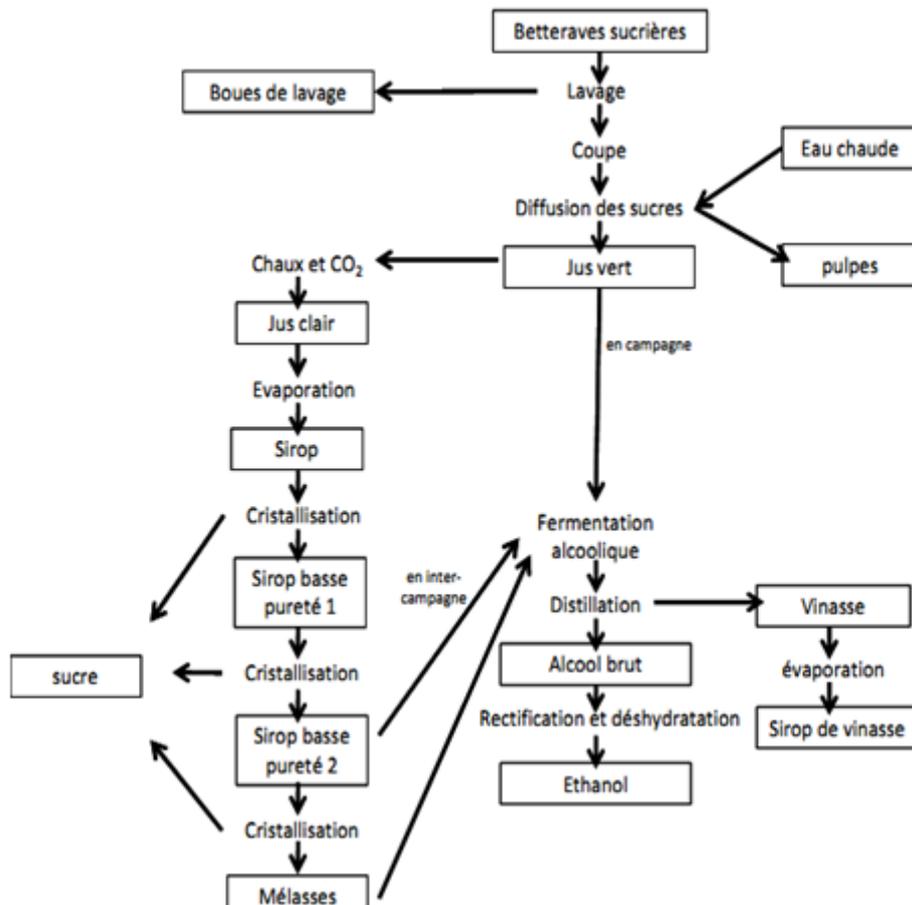


Annexe N°3: images des résultats d'analyse microbiologiques dans l'unité



Annexe

Annexe N°4 : Procédé de production de l'éthanol à partir d'une plante saccharifère



Procédé de production du bioéthanol à partir d'une plante amylacée par deux voies: La voie sèche "dry milling" et la voie humide "wet milling".

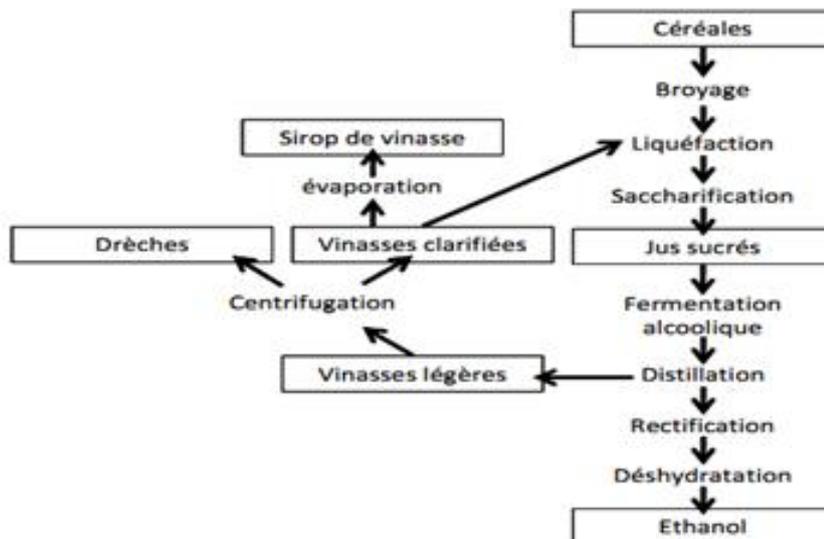


Schéma de transformation des céréales en éthanol par voie « dry milling »

Annexe

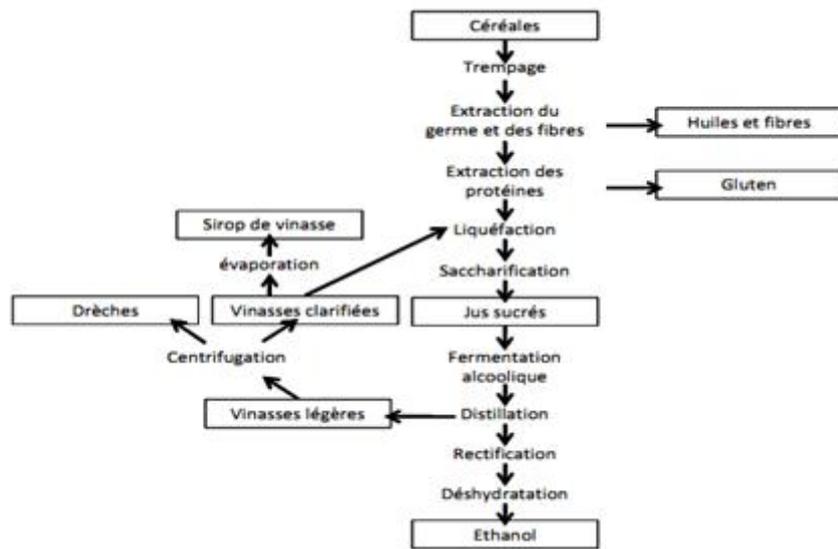
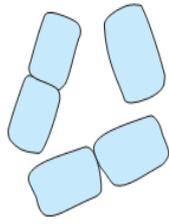
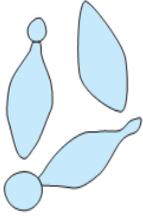
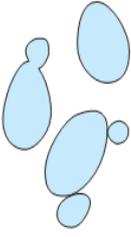


Schéma de transformation des céréales en éthanol par voie « wet milling »

Annexe N°5 : Classification des saccharomyces sur critère morphologique.

Levures sporogènes	Genre	Mode de division	Morphologie de la levure
Saccharomycetaceae	<i>Schizosaccharomyces</i>	Scissiparité	
	<i>Hanseniaspora</i> <i>saccharomycodes</i>	Bourgeonnement bipolaire (forme apiculée)	
	<i>Saccharomyces</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Dekkera</i> <i>Hansenula</i> <i>Pichia</i> <i>Zygosaccharomyces</i> <i>Torulaspora</i>	Bourgeonnement multipolaire	

Annexe

Annexe N°6: Préparation des solutions pour la détermination des sucres réducteurs dans la mélasse (méthode de GRD LA BELLE):

Solution A :

- Peser 69,28 g de sulfate de cuivre Cu SO_4 , dissoudre dans 1000 ml de l'eau distillée

Solution B : (sel de seignette)

- Peser 346,09 g de tartrate double de sodium et de potassium $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et 100 g d'hydroxyde de sodium NaOH , dissoudre dans 1000 ml de l'eau distillé

Indicateur colorée de bleu de méthylène:

- Peser 1g de bleu de méthylène et dissoudre dans 100 ml de l'eau distillé

Annexe N°7: Préparation de l'extrait méthanolique pour la détermination du pouvoir antioxydant dans la mélasse et dans le sucre roux.

Préparation de l'extrait méthanolique du sucre roux et de la mélasse

- Peser 20 g de sucre roux dans un bécher
- Dissoudre le sucre roux dans 60 ml de méthanol et compléter le volume jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillé.
- Laisser le mélange en agitation pendant 16 heures .
- Filtrer et concentrer le filtrat à 1/3 dans un potavapor.

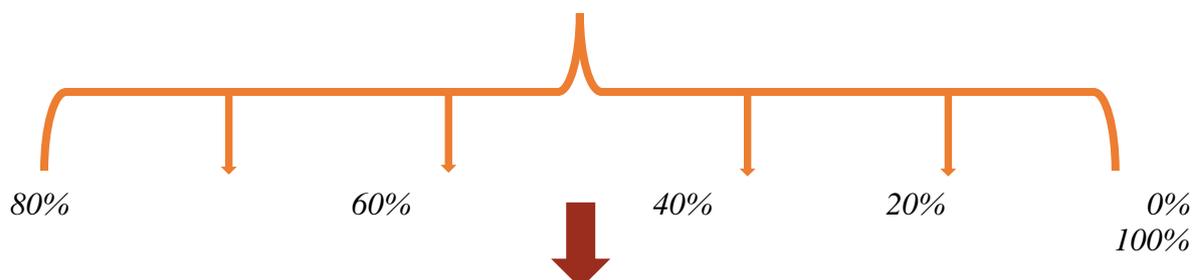
Annexe N°8 : Activité antioxydante totale (TAC).



Courbe d'étalonnage de TAC

Annexe

0,05g d'acide ascorbique dans 100ml d'eau distillée



0,3ml de chaque tube + 3ml de réactif (0,6M d'acide sulfurique, 28mM phosphate de sodium et 4mM molybdate d'ammonium)

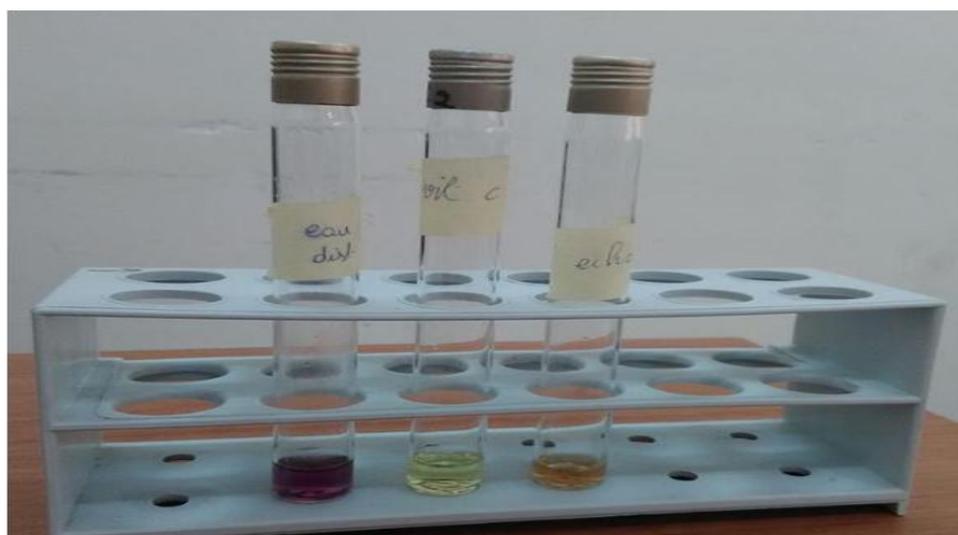
Agitation vortex + incubation à 95° pendant 90min

Laisser à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'à refroidissement

Mesure l'absorbance à 695nm

Diagramme de la capacité antioxydant

Annexe N°9 : Capacité antioxydant par la méthode de (DPPH) dans la mélasse



Annexe

Annexe N°10: Gamme d'étalonnage des composés phénoliques

Préparation de l'étalon des composés phénoliques totaux

0,01g de l'acide gallique dans 100ml d'eau distillée

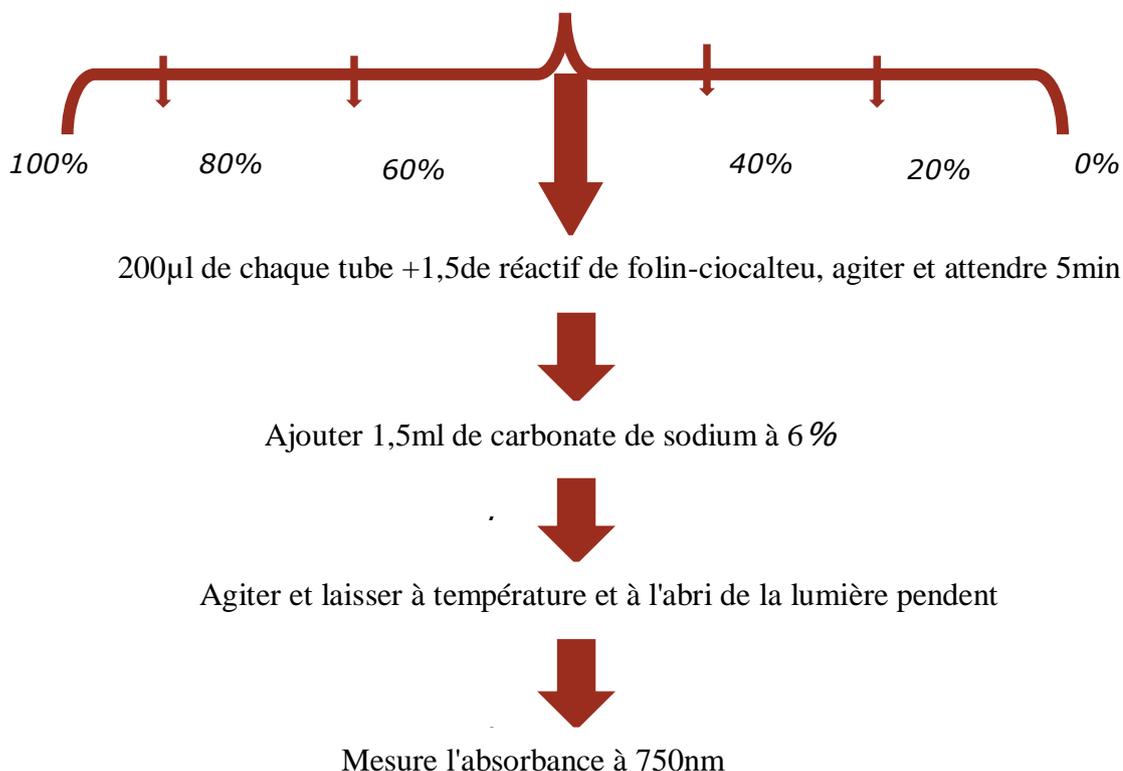


Diagramme de dosage des polyphénols totaux

Annexe N°11 : Détermination des sucres réducteurs par méthode de Somogyi-Nelson.

Préparation de la gamme d'étalonnage:

Préparer :

- 100ml d'une solution mère étalon de glucose à 1g/l, par pesé de glucose pur et anhydre.
- une solution fille étalon à 20 mg/l, par dilution 1/50^e de la solution mère.
- extemporanément le réactif cupro-alkalin en mélangeant 25ml de solution tartro-alkaline et 1ml de solution cuivrique
- La gamme d'étalonnage suivante :

Annexe

Tub N°	0	1	2	3
Solution fille étalon de glucose à 20µg/ml	0	0.5	1	2
Eau distillée (en ml)	2	1.5	1	0
Réactif cupro- alcalin (ml)	2	2	2	2

- Couvrir chaque tube .
- Porter au bain-marie bouillant 20min ,puis refroidir, sans agiter, dans un bain d'eau froide pendant 5mn.
- Ajouter 2ml de réactif arséniomoybdique dans chaque tube, mélanger par retournement.
- Compléter chaque tube à 10ml avec de l'eau distillée bouillie froide.
- Lire la densité optique dès que tout dégagement gazeux a cessé spontanément (ne pas agiter), contre un blanc, à 700nm.

Défécation:

Dans une Fiole jaugée de 50 ml, introduire dans l'ordre :

- 10 ml de mout (solution à analyser)
- 1ml solution d'hexacyanoferrate II de potassium (ferrocyanure de potassium) : Carrez I
- 1 ml de solution d'acétate de plomb : Carrez II
- Environ 25 ml eau distillée
- Agiter, puis ajuster à 50 ml
- Ajouter environ 2 ml d'eau distillée (afin de tenir compte du volume du précipité), agiter et laisser reposer 15 min.
- Filtrer sur filtre sans cendre.

Préparation des solutions:

Solution étalon de glucose à 5g/l :

Reactif cupro-alcalin de somogyi-nelson :

-solution A (tartro-alcaline) :

- Na_2CO_3 anhydre p.a, 25g
- Tartrate double de potassium et de sodium (sel de seignette) 25g
- NaHCO_3 pur 20g
- Na_2SO_4 pur sec 200g
- Eau distillée q.s.p 1000ml

-solution B (cuivrique) :

Annexe

- CuSO_4 à 15% (additionné de 2 gouttes d' H_2SO_4 concentré).

Réactif arsénio-molybdoque (C):

- Dissoudre 25g de molybdate d'ammonium dans 450ml d'eau distillée.
- Ajouter 21ml d'acide sulfurique concentré.
- Dissoudre à part 3g d'arséniate de sodium ($\text{Na}_2\text{HASO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$) dans 25ml d'eau distillée et joindre cette solution à précédente.
- Si le réactif a une teinte verdâtre, ajouter quelque gouttes de solution de $\text{KMnO}_4 \sim 0.05\text{N}$ jusqu'à obtention d'une coloration jaune d'or.
- Si cette solution présente un trouble, filtré sur papier Whatman n°1.
- Solution à conserver à l'abri de la lumière, en flacons bruns.

Annexe N°12 : Préparation des milieux de cultures pour les bactéries acétiques :

1. Milieu de Carr :

3g d'extrait de levure.

2g d'agar à gare.

0.1ml de vert de bromocrésol.

Rajouter après stérilisation au milieu à 45°C 20 ml d'éthanol stérilisé par filtration et couler en boîte de petri.

2. Milieu des bactéries acétique :

1g d'extrait de levure.

10g du glucose.

2g de carbonate de calcium.

2.5g d'agar à gare dissoudre dans 100ml d'eau distillée.

3. Milieu de frateur :

3g d'extrait de levure.

2g de carbonate de calcium.

2g de gélose dans 100ml d'eau distillée.

Les milieux Sant stérilisé à 120°C pendant 15min

Annexe

Rajouter avant emploi à 1 litre de gélose à 45°C 100 ml d'éthanol à 15 % stérilisé par filtration et couler en boîte de pétri en homogénéisant bien le milieu.

Annexe N°13 : Préparation des solutions pour le dosage de l'alcool

Solution nitro-chromique~0.05N

$K_2Cr_2O_7$ pur p.a 2.45g

HNO_3 pur p.a 1000ml

Solution d'iodure de potassium à 100g/l

Solution de thiosulfate de sodium~0,05 N

$Na_2S_2O_3, 5H_2O$ 12.5g

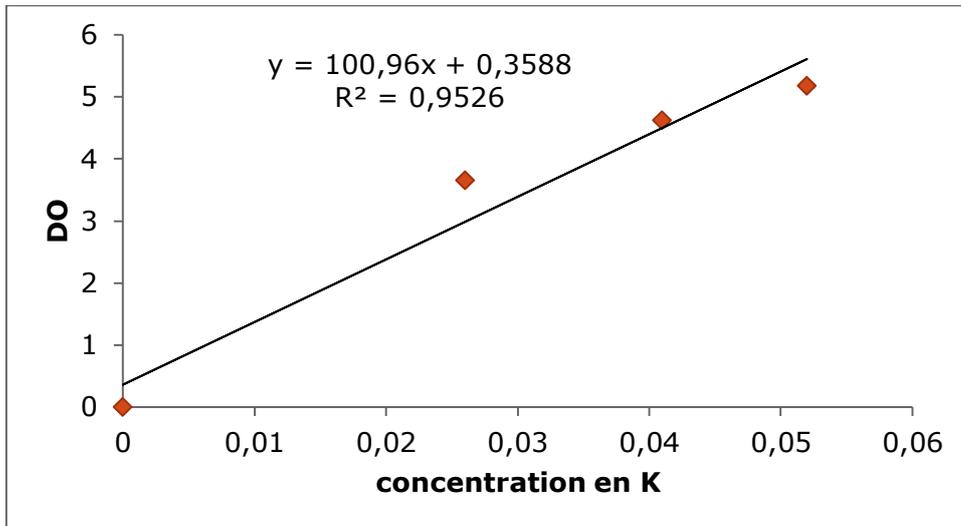
Eau distillée q.s.p 1000ml

Annexe N°14 : les vitamines et minéraux ajouter dans le mout

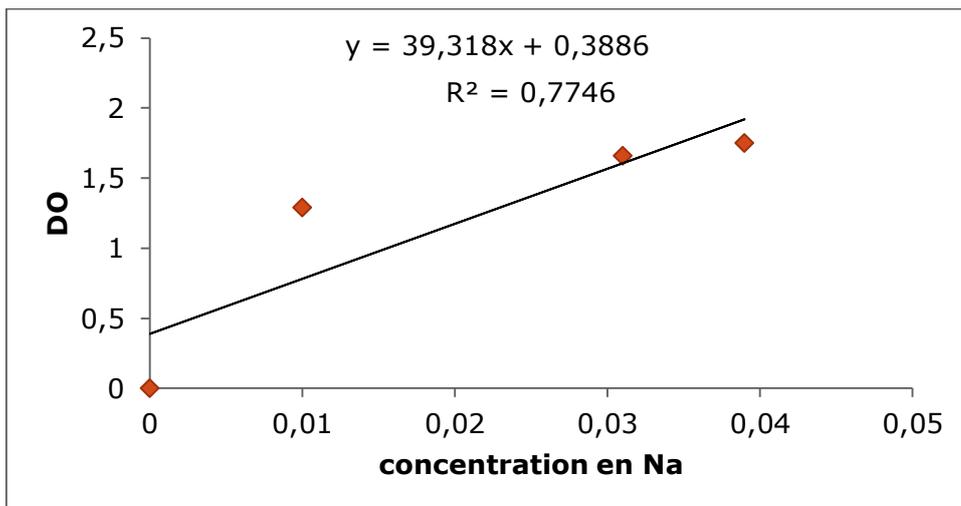
Vitamines minéraux	Pour1 comprimé	%AJR
A	800ugER	100%
B1	1.1mg	100%
B2	1.4mg	100%
B3	16mg	100%
B5	6mg	100%
B6	1.4mg	100%
B8	50ug	100%
B9	200ug	100%
B12	2.5ug	100%
C	80mg	100%
D3	5ug	100%
E	12mg a-TE	100%
Fer	14mg	100%
cuivre	1mg	100%
Zinc	10mg	100%
Manganèse	2mg	100%
Molybdène	50ug	100%
sélénium	50ug	90%
iode	75ug	50%
Magnésium	150ug	40%
calcium	120ug	15%
chrome	6ug	15%

Annexe

Annexe N°15 : courbe d'étalonnage pour le dosage des sels dans la mélasse par photométrie a flamme:

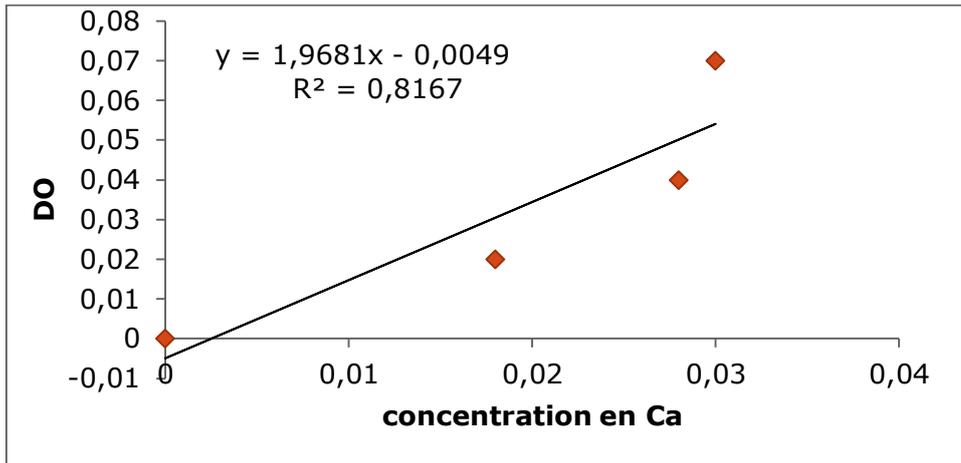


Courbe d'étalonnage de potassium



Courbe d'étalonnage de sodium

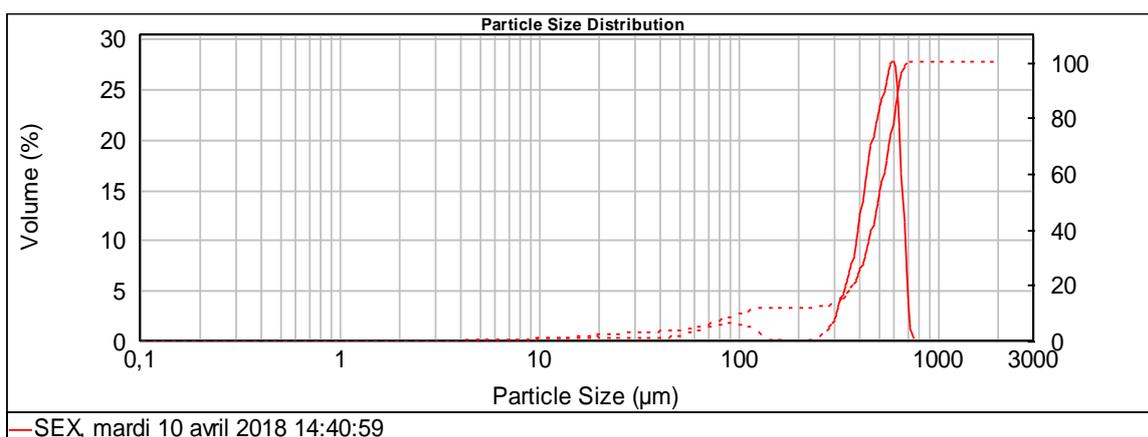
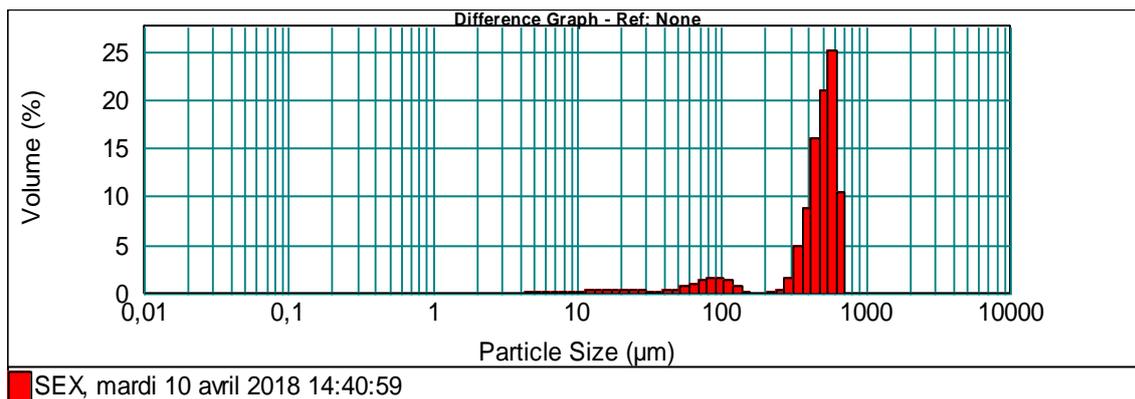
Annexe



Courbe d'étalonnage de calcium

Annexe N°16 : Analyse granulométrique des sucres par diffraction Laser (MASTERSIZER 2000)

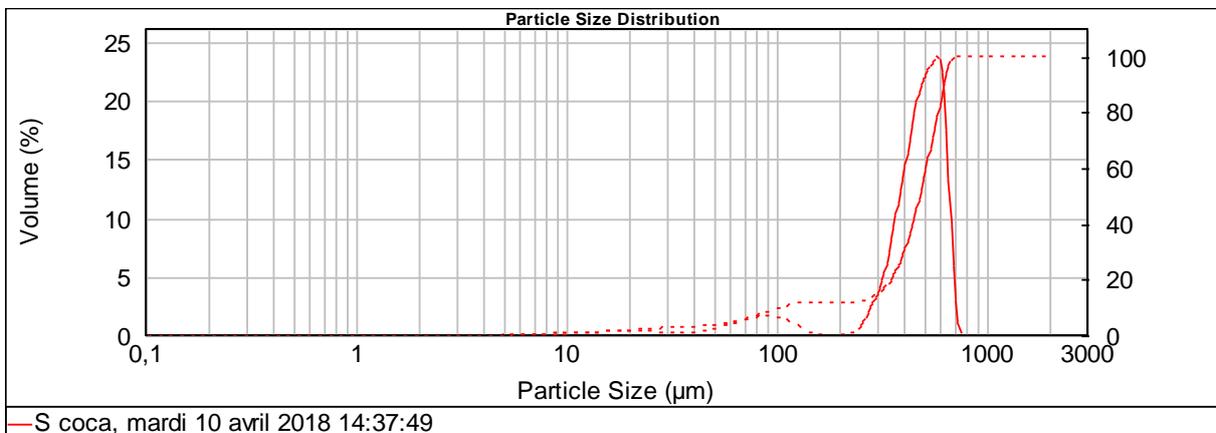
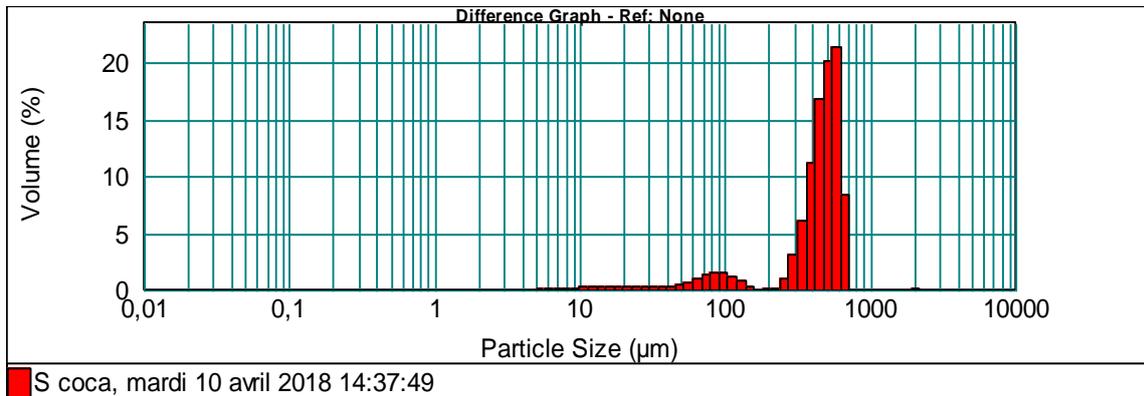
Granulométrie de Sucre expédie



Annexe

Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %
0,010	0,00	0,00	0,182	0,00	0,00	3,311	0,00	0,00	60,256	0,99	0,99	1096,478	0,00	0,00
0,011	0,00	0,00	0,209	0,00	0,00	3,802	0,00	0,00	69,183	1,31	1,31	1258,925	0,00	0,00
0,013	0,00	0,00	0,240	0,00	0,00	4,365	0,00	0,00	79,433	1,54	1,54	1445,440	0,00	0,00
0,015	0,00	0,00	0,275	0,00	0,00	5,012	0,03	0,03	91,201	1,54	1,54	1659,587	0,00	0,00
0,017	0,00	0,00	0,316	0,00	0,00	5,754	0,09	0,09	104,713	1,28	1,28	1905,461	0,00	0,00
0,020	0,00	0,00	0,363	0,00	0,00	6,607	0,11	0,11	120,226	0,68	0,68	2187,762	0,00	0,00
0,023	0,00	0,00	0,417	0,00	0,00	7,586	0,13	0,13	138,038	0,09	0,09	2511,886	0,00	0,00
0,026	0,00	0,00	0,479	0,00	0,00	8,710	0,15	0,15	158,489	0,09	0,09	2884,032	0,00	0,00
0,030	0,00	0,00	0,550	0,00	0,00	10,000	0,17	0,17	181,970	0,00	0,00	3311,311	0,00	0,00
0,035	0,00	0,00	0,631	0,00	0,00	11,482	0,20	0,20	208,930	0,00	0,00	3801,894	0,00	0,00
0,040	0,00	0,00	0,724	0,00	0,00	13,183	0,24	0,24	239,883	0,00	0,00	4365,158	0,00	0,00
0,046	0,00	0,00	0,832	0,00	0,00	15,136	0,28	0,28	275,423	0,36	0,36	5011,872	0,00	0,00
0,052	0,00	0,00	0,955	0,00	0,00	17,378	0,32	0,32	316,228	1,58	1,58	5754,399	0,00	0,00
0,060	0,00	0,00	1,096	0,00	0,00	19,953	0,34	0,34	363,078	4,78	4,78	6606,934	0,00	0,00
0,069	0,00	0,00	1,259	0,00	0,00	22,909	0,33	0,33	416,869	8,84	8,84	7585,776	0,00	0,00
0,079	0,00	0,00	1,445	0,00	0,00	26,303	0,30	0,30	478,630	16,01	16,01	8709,636	0,00	0,00
0,091	0,00	0,00	1,660	0,00	0,00	30,200	0,24	0,24	549,541	20,97	20,97	10000,000	0,00	0,00
0,105	0,00	0,00	1,905	0,00	0,00	34,674	0,20	0,20	630,957	25,07	25,07			
0,120	0,00	0,00	2,188	0,00	0,00	39,811	0,19	0,19	724,436	10,33	10,33			
0,138	0,00	0,00	2,512	0,00	0,00	45,709	0,25	0,25	831,764	0,00	0,00			
0,158	0,00	0,00	2,884	0,00	0,00	52,481	0,41	0,41	954,993	0,00	0,00			
0,182	0,00	0,00	3,311	0,00	0,00	60,256	0,66	0,66	1096,478	0,00	0,00			

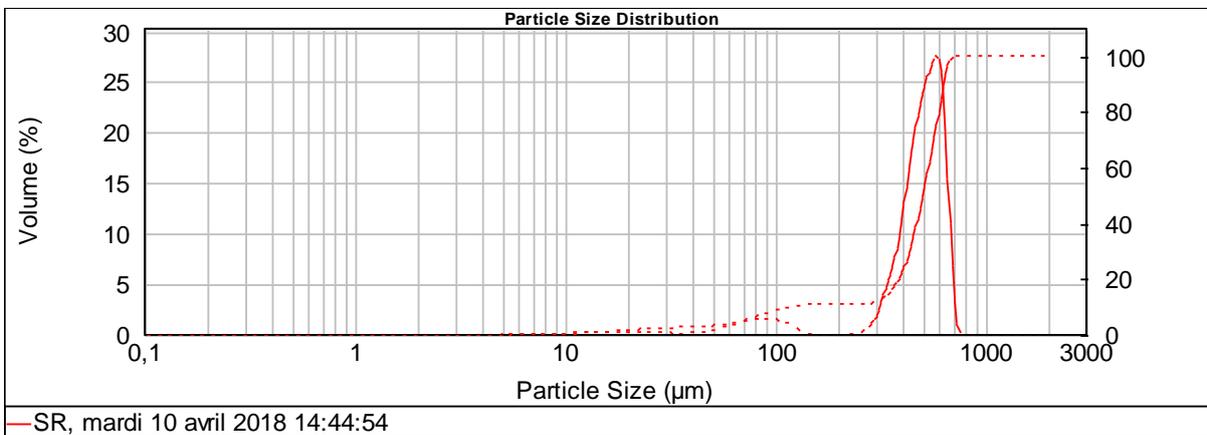
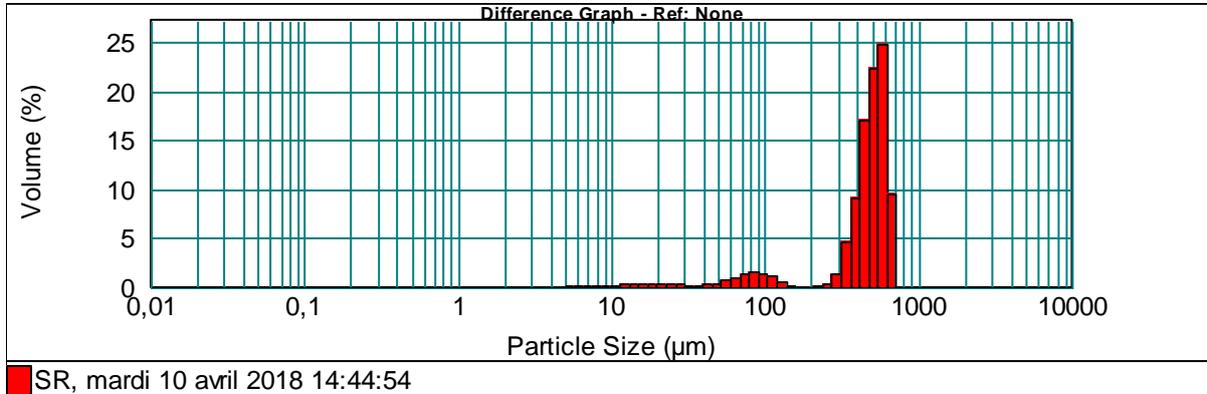
Granulométrie de Sucre coca-cola



Annexe

Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %
0,010	0,00	0,00	0,182	0,00	0,00	3,311	0,00	0,00	60,256	1,00	1,00	1096,478	0,00	0,00
0,011	0,00	0,00	0,209	0,00	0,00	3,802	0,00	0,00	69,183	1,28	1,28	1258,925	0,00	0,00
0,013	0,00	0,00	0,240	0,00	0,00	4,365	0,00	0,00	79,433	1,47	1,47	1445,440	0,00	0,00
0,015	0,00	0,00	0,275	0,00	0,00	5,012	0,03	0,03	91,201	1,46	1,46	1659,587	0,00	0,00
0,017	0,00	0,00	0,316	0,00	0,00	5,754	0,10	0,10	104,713	1,22	1,22	1905,461	0,00	0,00
0,020	0,00	0,00	0,363	0,00	0,00	6,607	0,12	0,12	120,226	0,73	0,73	2187,762	0,00	0,00
0,023	0,00	0,00	0,417	0,00	0,00	7,586	0,14	0,14	138,038	0,18	0,18	2511,886	0,00	0,00
0,026	0,00	0,00	0,479	0,00	0,00	8,710	0,16	0,16	158,489	0,00	0,00	2884,032	0,00	0,00
0,030	0,00	0,00	0,550	0,00	0,00	10,000	0,20	0,20	181,970	0,00	0,00	3311,311	0,00	0,00
0,035	0,00	0,00	0,631	0,00	0,00	11,482	0,24	0,24	208,930	0,09	0,09	3801,894	0,00	0,00
0,040	0,00	0,00	0,724	0,00	0,00	13,183	0,28	0,28	239,883	0,92	0,92	4365,158	0,00	0,00
0,046	0,00	0,00	0,832	0,00	0,00	15,136	0,31	0,31	275,423	3,03	3,03	5011,872	0,00	0,00
0,052	0,00	0,00	0,955	0,00	0,00	17,378	0,33	0,33	316,228	6,09	6,09	5754,399	0,00	0,00
0,060	0,00	0,00	1,096	0,00	0,00	19,953	0,33	0,33	363,078	11,22	11,22	6606,934	0,00	0,00
0,069	0,00	0,00	1,259	0,00	0,00	22,909	0,30	0,30	416,869	16,71	16,71	7585,776	0,00	0,00
0,079	0,00	0,00	1,445	0,00	0,00	26,303	0,26	0,26	478,630	20,12	20,12	8709,636	0,00	0,00
0,091	0,00	0,00	1,660	0,00	0,00	30,200	0,23	0,23	549,541	21,43	21,43	10000,000	0,00	0,00
0,105	0,00	0,00	1,905	0,00	0,00	34,674	0,23	0,23	630,957	8,31	8,31			
0,120	0,00	0,00	2,188	0,00	0,00	39,811	0,30	0,30	724,436	0,00	0,00			
0,138	0,00	0,00	2,512	0,00	0,00	45,709	0,46	0,46	831,764	0,00	0,00			
0,158	0,00	0,00	2,884	0,00	0,00	52,481	0,70	0,70	954,993	0,00	0,00			
0,182	0,00	0,00	3,311	0,00	0,00	60,256			1096,478	0,00	0,00			

Granulométrie de Sucre roux



Annexe

Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %
0,010	0,00	0,00	0,182	0,00	0,00	3,311	0,00	0,00	60,256	0,96	0,96	1096,478	0,00	0,00
0,011	0,00	0,00	0,209	0,00	0,00	3,802	0,00	0,00	69,183	1,26	1,26	1258,925	0,00	0,00
0,013	0,00	0,00	0,240	0,00	0,00	4,365	0,00	0,00	79,433	1,44	1,44	1445,440	0,00	0,00
0,015	0,00	0,00	0,275	0,00	0,00	5,012	0,02	0,02	91,201	1,42	1,42	1659,587	0,00	0,00
0,017	0,00	0,00	0,316	0,00	0,00	5,754	0,10	0,10	104,713	1,14	1,14	1905,461	0,00	0,00
0,020	0,00	0,00	0,363	0,00	0,00	6,607	0,10	0,10	120,226	0,54	0,54	2187,762	0,00	0,00
0,023	0,00	0,00	0,417	0,00	0,00	7,586	0,11	0,11	138,038	0,02	0,02	2511,886	0,00	0,00
0,026	0,00	0,00	0,479	0,00	0,00	8,710	0,14	0,14	158,489	0,00	0,00	2884,032	0,00	0,00
0,030	0,00	0,00	0,550	0,00	0,00	10,000	0,17	0,17	181,970	0,00	0,00	3311,311	0,00	0,00
0,035	0,00	0,00	0,631	0,00	0,00	11,482	0,22	0,22	208,930	0,00	0,00	3801,894	0,00	0,00
0,040	0,00	0,00	0,724	0,00	0,00	13,183	0,26	0,26	239,883	0,29	0,29	4365,158	0,00	0,00
0,046	0,00	0,00	0,832	0,00	0,00	15,136	0,30	0,30	275,423	1,39	1,39	5011,872	0,00	0,00
0,052	0,00	0,00	0,955	0,00	0,00	17,378	0,32	0,32	316,228	4,68	4,68	5754,399	0,00	0,00
0,060	0,00	0,00	1,096	0,00	0,00	19,953	0,31	0,31	363,078	9,07	9,07	6606,934	0,00	0,00
0,069	0,00	0,00	1,259	0,00	0,00	22,909	0,27	0,27	416,869	16,94	16,94	7585,776	0,00	0,00
0,079	0,00	0,00	1,445	0,00	0,00	26,303	0,21	0,21	478,630	22,34	22,34	8709,636	0,00	0,00
0,091	0,00	0,00	1,660	0,00	0,00	30,200	0,16	0,16	549,541	24,85	24,85	10000,000	0,00	0,00
0,105	0,00	0,00	1,905	0,00	0,00	34,674	0,16	0,16	630,957	9,52	9,52			
0,120	0,00	0,00	2,188	0,00	0,00	39,811	0,23	0,23	724,436	0,00	0,00			
0,138	0,00	0,00	2,512	0,00	0,00	45,709	0,39	0,39	831,764	0,00	0,00			
0,158	0,00	0,00	2,884	0,00	0,00	52,481	0,65	0,65	954,993	0,00	0,00			
0,182	0,00	0,00	3,311	0,00	0,00	60,256			1096,478					

Annexe N°17 : image de densimètre OZWALD utiliser dans la mesure de l'écoulement de mélasse avant et après l'inversion de saccharose.



Annexe

Annexe N°18 : table pour transformer la densité

Tableau 1 : Balance hydrostatique (BH)

Échantillon	Moyenne	Valeurs totales	Valeurs retenues	répétabilité	s_r	RSDr	Hor	Reproductibilité	s_R	RSDRcalc	HoR	n° répét.	CrD95
01/08	0,995491	130	120	0,0001701	0,0000607	0,0061016	0,0046193	0,0005979	0,0002135	0,0214502	0,0107178	2	0,0004141
02/08	1,011475	146	125	0,0004714	0,0001684	0,0166457	0,0126320	0,0008705	0,0003109	0,0307366	0,0153947	2	0,0005686
03/08	0,992473	174	161	0,0001470	0,0000525	0,0052898	0,0040029	0,0004311	0,0001540	0,0155140	0,0077482	2	0,0002959
04/08	0,993147	172	155	0,0002761	0,0000986	0,0099274	0,0075130	0,0005446	0,0001945	0,0195839	0,0097818	2	0,0003595
05/08	1,004836	150	138	0,0001882	0,0000672	0,0066905	0,0050723	0,0007495	0,0002677	0,0266373	0,0133283	2	0,0005215
06/08	0,993992	152	136	0,0001486	0,0000531	0,0053391	0,0040411	0,0005302	0,0001894	0,0190506	0,0095167	2	0,0003675
07/08	0,992447	162	150	0,0002660	0,0000950	0,0095709	0,0072424	0,0006046	0,0002159	0,0217575	0,0108664	2	0,0004063
08/08	0,992210	162	151	0,0002619	0,0000935	0,0094281	0,0071341	0,0006309	0,0002253	0,0227108	0,0113420	2	0,0004265
09/08	1,002600	148	131	0,0001093	0,0000390	0,0038920	0,0029496	0,0007000	0,0002500	0,0249341	0,0124719	2	0,0004919
10/08	0,994482	174	152	0,0001228	0,0000439	0,0044105	0,0033385	0,0004250	0,0001518	0,0152645	0,0076259	2	0,0002942
11/08	0,992010	136	125	0,0000909	0,0000325	0,0032742	0,0024775	0,0004256	0,0001520	0,0153217	0,0076516	2	0,0002975
01/09	0,994184	174	152	0,0001655	0,0000591	0,0059435	0,0044987	0,0005439	0,0001942	0,0195384	0,0097606	2	0,0003756
02/09	0,992266	118	101	0,0001742	0,0000622	0,0062682	0,0047431	0,0005210	0,0001861	0,0187534	0,0093658	2	0,0003580
03/09	0,991886	164	135	0,0001850	0,0000661	0,0066603	0,0050395	0,0004781	0,0001707	0,0172136	0,0085963	2	0,0003251
04/09	0,993632	180	150	0,0001523	0,0000544	0,0054754	0,0041440	0,0004270	0,0001525	0,0153476	0,0076664	2	0,0002922
05/09	1,011061	116	100	0,0003659	0,0001307	0,0129234	0,0098067	0,0008338	0,0002978	0,0294527	0,0147508	2	0,0005605
06/09	0,992063	114	105	0,0002923	0,0001044	0,0105238	0,0079631	0,0005257	0,0001877	0,0189240	0,0094507	2	0,0003418
07/09	0,992708	172	155	0,0002892	0,0001033	0,0104040	0,0078732	0,0006156	0,0002199	0,0221478	0,0110617	2	0,0004106
08/09	0,993064	136	127	0,0002926	0,0001045	0,0105224	0,0079632	0,0007520	0,0002686	0,0270446	0,0135081	2	0,0005112
09/09	1,005285	118	110	0,0002946	0,0001052	0,0104661	0,0079352	0,0007226	0,0002581	0,0256704	0,0128454	2	0,0004892
10/09	0,992905	150	132	0,0002234	0,0000798	0,0080358	0,0060812	0,0004498	0,0001607	0,0161803	0,0080815	2	0,0002978
11/09	0,994016	142	127	0,0001896	0,0000677	0,0068114	0,0051555	0,0004739	0,0001693	0,0170278	0,0085062	2	0,0003214
01/10	0,994734	170	152	0,0002125	0,0000759	0,0076288	0,0057748	0,0005406	0,0001931	0,0194104	0,0096975	2	0,0003672
02/10	0,993177	120	110	0,0002210	0,0000789	0,0079467	0,0060140	0,0005800	0,0002071	0,0208565	0,0104175	2	0,0003950
03/10	0,992799	148	136	0,0002277	0,0000813	0,0081923	0,0061995	0,0015157	0,0005413	0,0545262	0,0272335	2	0,0010657
04/10	0,995420	172	157	0,0002644	0,0000944	0,0094866	0,0071819	0,0006286	0,0002245	0,0225542	0,0112693	2	0,0004244
05/10	1,002963	120	108	0,0007086	0,0002531	0,0252330	0,0191244	0,0013667	0,0004881	0,0486677	0,0243447	2	0,0008991
06/10	0,992546	120	113	0,0001737	0,0000620	0,0062506	0,0047300	0,0005435	0,0001941	0,0195567	0,0097673	2	0,0003744
07/10	0,992831	174	152	0,0003003	0,0001073	0,0108031	0,0081753	0,0006976	0,0002492	0,0250959	0,0125344	2	0,0004699
08/10	0,993184	144	130	0,0001799	0,0000642	0,0064674	0,0048945	0,0005951	0,0002125	0,0213984	0,0106882	2	0,0004111
09/10	1,012293	114	103	0,0002265	0,0000809	0,0079907	0,0060647	0,0014586	0,0005209	0,0514596	0,0257772	2	0,0010251
10/10	0,992289	154	136	0,0006386	0,0002281	0,0229860	0,0173933	0,0007033	0,0002512	0,0253124	0,0126415	2	0,0003812
11/10	0,994649	130	112	0,0002902	0,0001036	0,0104200	0,0078876	0,0005287	0,0001888	0,0189830	0,0094838	2	0,0003445

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES - OIV
Masse volumique et densité relative à 20°C - Méthodes Type I