

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de science alimentaire  
Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme  
**MASTER**

## Thème

Valorisation de la mélasse de «CEVITAL»  
pour la production du biocarburant  
« Bioéthanol »

**Réalisé par :**

- Aroua Sassa
- Gana Rima

**Soutenu le 07 juillet 2022**

**Jury d'évaluation :**

**Présidente :** Mme Brahmi Nabila  
**Examinatrice :** Mme Mouhoubi-Tafinine Zina  
**Promotrice :** Mme Ouchemoukh Nadia

**Année universitaire : 2021/2022**



# *Remerciements*

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

*Nous remercions notre promoteur M<sup>me</sup> OUCHEMOUKH et les membres de laboratoire d'analyse physicochimique de la raffinerie de sucre au niveau du complexe CEVITAL*

*Nous remercions sincèrement M<sup>me</sup> BRAHMI de nous aider et conseiller et de nous avoir fait l'honneur de présider notre jury, ainsi que M<sup>me</sup> MOUHOUBI-TAFININE pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

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

***Sassa et Rima.***

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

***A mes chers parents et mes beaux parents***

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard,  
de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre  
mes objectifs.*

***A mes chers frères et mes beaux frères***

***A mes chères sœurs et ma belle sœur***

*Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long  
de mes études.*

***A mon cher mari et ma petite princesse Ilina***

*Qui m'a aidé, encouragé et soutenu dans les moments  
difficiles.*

***Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs patiences infinies.***

***A ma cher binôme,***

*Pour sa entente et sa sympathie.*

***A mes chères ami (e)s,***

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

***A toute ma famille***

**Sassa**

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A ma chère mère,*

*A mon cher père,*

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard,  
de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre  
mes objectifs.*

*A mes chers frères, \*\*\*\**

*A mes chères sœurs, \*\*\**

*Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long  
de mes études.*

*A mon cher mari,*

*Qui m'a aidé, encouragé et soutenu dans les moments  
difficiles.*

*Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs patiences infinies.*

*A ma cher binôme,*

*Pour sa entente et sa sympathie.*

*A mes chères ami (e)s,*

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*A toute ma famille*

**Rima**

# Liste des tableaux

---

**Liste des tableaux**

<b>Tableau I :</b> Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de mélasse .....	5
<b>Tableau II :</b> Propriétés physiques de l'éthanol .....	7
<b>Tableau III :</b> Comparaison des avantages et inconvénients de l'utilisation du bioéthanol en t'en que carburant.....	9
<b>Tableau IV :</b> Préparation des moûts .....	22
<b>Tableau V :</b> Préparation des moûts à différentes concentration de mélasse .....	23
<b>Tableau VI:</b> Résultats des analyses .....	27

# Liste des figures

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Domaines d'utilisation du bioéthanol.....	8
<b>Figure 2:</b> Etapes de production de bioéthanol 1 <sup>ère</sup> génération.....	10
<b>Figure 3 :</b> Etapes de production de bioéthanol 2 <sup>ème</sup> génération.....	10
<b>Figure 4 :</b> Etapes de production de bioéthanol 3 <sup>ème</sup> génération.....	11
<b>Figure 6 :</b> photographie de l'inoculum de la levure <i>S. cerevisiae</i> .....	22
<b>Figure 7 :</b> Photographie de l'expérience 1 .....	23
<b>Figure 8 :</b> Photographie de l'échantillon 1 et 2.....	24
<b>Figure 9 :</b> Histogramme de l'effet de la quantité de levure sur la fermentation alcoolique.....	28
<b>Figure 10 :</b> taux de production de bioéthanol .....	29
<b>Figure 11 :</b> le taux de production de bioéthanol en fonction de pH .....	30

# **Sommaire**

---

## Sommaire

### Remerciement

### Dédicas

### Liste des tableaux

### Liste des figures

Introduction.....	1
<b>Partie 1 : Synthèse Bibliographique.....</b>	<b>3</b>
I. Matière première : la mélasse .....	4
1. Définition de la mélasse .....	4
1.1. Origine de la mélasse .....	4
1.2. Composition de la mélasse .....	4
1.3. Utilisation de la mélasse.....	5
1.4. Caractéristique physico-chimique de la mélasse.....	6
II. Généralités sur le bioéthanol.....	6
1. Définition du bioéthanol.....	6
2. Composition de bioéthanol.....	7
3. Propriétés physico-chimique de bioéthanol.....	7
4. Utilisation de bioéthanol.....	8
5. Avantages et inconvénients du bioéthanol .....	9
6. Génération de bioéthanol.....	10
III. Agent fermentaire « <i>Saccharomyces cerevisiae</i> » .....	11
1. Définition de la levure .....	11
2. Nutrition et Conditions de culture de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	12
3. Avantages d'utiliser les souches de <i>saccharomyces</i> .....	13
4. Métabolisme fermentaire de la levure .....	13
5. Paramètres de la fermentation alcoolique (FA).....	14
5.1. Conditions de culture .....	14
5.2. Besoins des levures pour leur croissance .....	14
IV. Différents procédés de la fermentation alcoolique.....	15
V. Le procédé de distillation.....	16
1. Définition.....	16
2. Les types de distillation .....	16

---

<b>Partie 2 : expérimentale</b> .....	18
<b>Chapitre 1 : matérielle et méthode</b> .....	19
1. Echantonnage .....	20
2. Analyse physico-chimique de la mélasse de «CEVITAL»... ..	20
3. Procédé de fermentation... ..	21
3.1. Optimisation de quelques paramètres de la fermentation... ..	21
3.1.1. Préparation de l'inoculum... ..	21
3.1.2. Préparation des moûts pour fermentations .....	22
A. Détermination du taux de l'éthanol par apport au ferment.....	22
B. Détermination du taux de l'éthanol par apport à la quantité de sucre.....	23
C. Effet de ph sur le taux de production .....	23
4. Procédé de distillation .....	23
4.1. Identification de l'éthanol... ..	24
4.2. Calcul du taux d'éthanol .....	24
<b>Chapitre 2 : Résultats et discussion</b> .....	26
1. Résultats d'analyse physicochimique de la mélasse.....	27
2. Résultats d'optimisation des paramètres de la fermentation... ..	27
2.1. Effet de la quantité de levure sur la fermentation alcoolique.....	27
2.2. Effet de la concentration de sucres dans une fermentation alcoolique .....	29
2.3. Taux de production de bioéthanol influences par le pH.....	30
3. Détermination du bioéthanol produit.....	30
Conclusion .....	34
Références bibliographiques.....	36
Annexes	
Résumé	

# **Introduction**

### Introduction

L'industrie agroalimentaire engendre des déchets très variés potentiellement valorisables, ce qui leur donne une dimension de coproduits. Ils représentent une excellente source d'énergie propre, qui leurs confèrent une forte valeur ajoutée. La revalorisation des déchets de l'industrie permet de concilier bénéfices économiques et protection de l'environnement (**source cevital**).

L'industrie de raffinage de sucre (Cevital) est un secteur de l'industrie agroalimentaire particulièrement présent dans la Wilaya de Bejaia (Algérie). Elle engendre la mélasse comme principal coproduit. En effet, cette dernière est un excellent substrat de par sa richesse en sucre et en minéraux qui pourrait être utilisé dans les bioprocédés pour produire que ce soit la biomasse, les acides organiques ou les alcools (**source Cevital**).

Le but de ce complexe agroalimentaire est de produire une mélasse dont la pureté aussi basse que possible, conforme, du point de vu, réglementation et qualité commerciale, pour répondre à la concurrence nationale et internationale et assurer une amélioration durant son existence tout en appliquant les normes internationales ISO 9001 et ISO 22000.

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

Le biocarburant (bioéthanol), parfois appelé agro carburant qu'est le plus consommé dans le monde issu de la matière première végétale. Sa production peut être dérivée des procédés de fermentation à partir des résidus agro-industriels contenant des sucres ou des précurseurs du sucre comme la mélasse. Le bioéthanol peut constituer une solution de choix, étant donnée la nécessité de remplacer les combustibles fossiles. Il existe de nombreux types de biocarburants, comme le Biodiesel, le Bioéthanol (**Alazard-Toux et al., 2006**).

Le présent travail consiste à réaliser des fermentations alcooliques de la mélasse à l'aide d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* (levure boulangère) la moins chère disponible pour la conversion du substrat de biomasse telle que décrit par **(Thenmozhi et Victoria.,2013)** , afin de produire du bioéthanol, en faisant varier plusieurs paramètres ( la concentration en sucre, le pH du milieu et la température) en vue d'obtenir les performances optimums de la fermentation et d'avoir un bon rendement en alcool au final.

Le présent travail est divisé en deux parties, la première partie c'est la partie synthèse bibliographique qui englobe des généralités sur la mélasse, le bioéthanol et la levure *Saccharomyces cerevisiae*. La deuxième partie c'est la partie expérimentale, qui est constitué de deux chapitres ; le premier c'est le matériel et méthodes au sont détaillé les teste effectué et le deuxième c'est le résultat et discussion ainsi que la conclusion et les perspectives dégager.

# **Synthèse Bibliographique**

## Synthèse Bibliographique

### I. Matière première : la mélasse

#### 1. Définition de la mélasse

La mélasse est un coproduit de raffinage du sucre, elle résulte du raffinage du mélange du sucre extrait de la betterave sucrière ou de la canne à sucre après refonte, épuration, décoloration, concentration et cristallisation du sirop. Elle est valorisée comme édulcorant dans l'alimentation des animaux ou comme source de biomasse pour la fermentation d'éthanol, du glutamate et d'acide lactique. La mélasse contient aussi plusieurs composants phénoliques dérivés de la canne à sucre (**Kensaku et al., 2017**). Riche en sucre et en substances minérales, ce bioéthanol est essentiellement utilisé par l'industrie agroalimentaire pour la production de spiritueux notamment pour la parfumerie et la pharmacie galénique (comme solvant) ainsi qu'un biocarburant (**Patel et al., 2003**).

#### 1.1 Origine de la mélasse

##### ➤ Récupération de la mélasse de « CEVITAL »

A l'arrivée de bateaux, des prélèvements d'échantillons de matières premières sont effectués pour l'établissement d'un bulletin d'analyse. A son stockage dans un hangar et de ce dernier vers la trémie par le tapie et le releveur, elle subit des étapes du raffinage dans des différentes sections qui sont les suivantes : affinage et refonte, carbonatation, filtration, décoloration, concentration et cristallisation. Cette dernière étape elle permet d'extraire le saccharose en solution dans le jus concentré, alors que les impuretés restent concentrées dans le liquide pour donner en final une solution résiduelle épuisée. C'est une étape qui nous permet de récupérer la mélasse.

#### 1.2. Composition de la mélasse

Moins calorique que le saccharose, 290 kcal pour 100 g contre 375 kcal, la mélasse contient de la vitamine B et des minéraux, ce qui n'est pas le cas du sucre blanc cristallisé  
Tableau I.

**Tableau I : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de mélasse (USDA , 2018)**

Apport énergétique		Minéraux et oligo-éléments (mg)	
Calories	<b>290Kcal</b>	Calcium	<b>205</b>
Joules	<b>1213KJ</b>	Fe	<b>4075</b>
<b>Principaux composants (g)</b>		Magnésium	<b>242</b>
Sucre totaux	<b>74,73</b>	Phosphore	<b>31</b>
Amidon	<b>0,01</b>	Potassium	<b>1464</b>
Fibre alimentaire	<b>0</b>	Sodium	<b>37</b>
Protéines	<b>0</b>	<b>Vitamine (mg)</b>	
Lipides	<b>0,1</b>	Vitamine B3 ou PP	<b>0,930</b>
Eau	<b>21,87</b>	Vitamine B6	<b>0,60</b>

### 1.3. Utilisations de la mélasse

La méthode la plus utilisée dans différents domaines comme édulcorant, la mélasse entre dans la composition de desserts et de friandises. mais elle est surtout utilisée pour la production d'éthanol (après fermentation alcoolique). Elle est aussi utilisée dans l'alimentation du bétail, souvent dans ce cas mélangée avec la bagasse ou la pulpe de betterave. Elle est aussi utilisée comme composant d'amorces et d'additifs pour amorces destinées à la pêche. Elle peut aussi nourrir des levures ou des bactéries dans des fermenteurs, où :

- Une levure rouge *Phaffia rhodozyma* cultivée sur un substrat contenant 7 à 10 % de mélasse industrielle, produit deux à trois fois plus d'*astaxanthine* (colorant alimentaire) que la normale, ce qui lui donne un rendement industriel deux fois plus élevé qu'avec du glucose en mélange équivalent.

- La souche *Pseudomonas aeruginosa*, en culture dans un substrat enrichi en mélasse produit des bio surfactants (Composé actif biologique des détergents, il favorise l'humidification, la solubilisation et l'émulsion de composés organiques).

- Elle pourrait aussi devenir une source industrielle d'hydrogène, produite en continu par des bactéries expériences faites avec une souche d'entérobactérie *Enterobacter aerogenes* élevées dans un fermenteur à 38°C (Tanishoa et al., 1994).

## 1.4. Caractéristiques physico-chimiques de la mélasse

### A. Densité

La densité réelle de la mélasse est de l'ordre de 1,4 à 1,5, densité supérieure à celle de l'eau (**Hugot, 1987**).

### B. Viscosité

La viscosité de la mélasse augmente rapidement lorsque sa température diminue. La viscosité augmente aussi avec le Brix et aussi avec la proportion d'air emprisonnée sous forme des fines bulles dans la mélasse ( **Hugot, 1987 ; Bernard et al., 1991** )

### C. Teneur en air

La mélasse contient des bulles d'air. Le volume d'air est d'ordre de 15% de volume de la mélasse et est plus élevé que la mélasse est manipulée et aussi que la mélasse est visqueuse (**Hugot, 1987 ; Kulkarni, 1996** ).

### D. Pureté

La pureté de la mélasse est le rapport exprimé en pourcentage (%) entre le taux de sucre et la matière sèche (Brix) (**Larpen et Larpen, 1985**) .

### E. Brix

Le brix est la concentration en matières sèches dissoutes (saccharose, réducteurs, acides, sels, etc.). En conséquence, un indice brix pour la mélasse différera souvent nettement du sucre réel ou du contenu de solide total. La mesure du brix d'une solution sucrée, exprimée en brix, est obtenue par une lecture de l'indice de réfraction de la solution (**Curtin, 1983 ; Caldwell, 1997 ; Benne, 1999**).

## II. Généralités sur le bioéthanol

### 1. Définition du bioéthanol

Le bioéthanol est l'éthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) élaboré à partir de la biomasse. C'est un liquide volatil, incolore et inflammable, qui a une odeur particulière. Il est aussi miscible à l'eau en toutes proportions. Sa combustion est sans fumée et donne une flamme bleutée. Il est obtenu par la fermentation des sucres fermentescibles contenus dans la biomasse en présence d'une levure *Saccharomyces cerevisiae* qui est l'une des levures utilisées lors de la fermentation des sucres. Le bioéthanol peut être produit à partir (**Fernandez-Lopez, 2012**).

✓ De substrats riches en sucrose (canne à sucre, betterave sucrière, etc.), et en amidon (maïs, l'orge, blé, pomme de terre, etc.).

- ✓ De substrats cellulosiques tels que les résidus agricoles (la paille ou les cannes de maïs), les résidus forestiers, cultures énergétiques (le panic érigé ou des arbres à courte rotation).
- ✓ De micro-algues.

## 2. Composition du bioéthanol

Le bioéthanol contient 35% d'oxygène, ce qui permet une réduction d'émission de matière particulaire. L'utilisation de bioéthanol réduit de 7% la quantité de CO<sub>2</sub> émise par rapport à l'essence (**Demirbas, 2010**). Par ailleurs, le bioéthanol se caractérise par un indice d'octane très élevé. Un fort indice d'octane, indique une résistance élevée à la détonation provoquée par un allumage prématuré assurant une haute performance du moteur notamment, sur le plan de la puissance développée. L'éthanol joue à ce titre le rôle des dérivés du plomb autrefois présents dans l'essence (**Brodeur, 2011**)

## 3. Propriétés physico-chimiques du bioéthanol

Les propriétés physico-chimiques de l'éthanol proviennent principalement de la présence du groupe hydroxyle et de la courte chaîne carbonée. Le groupe hydroxyle peut former des liaisons hydrogène, rendant l'éthanol plus visqueux et moins volatil que des solvants organiques de masses moléculaires équivalentes (**Mokrane-Soualah, 2014**) Tableau II.

**Tableau II : Propriétés physiques de l'éthanol (Mousli, 2017)**

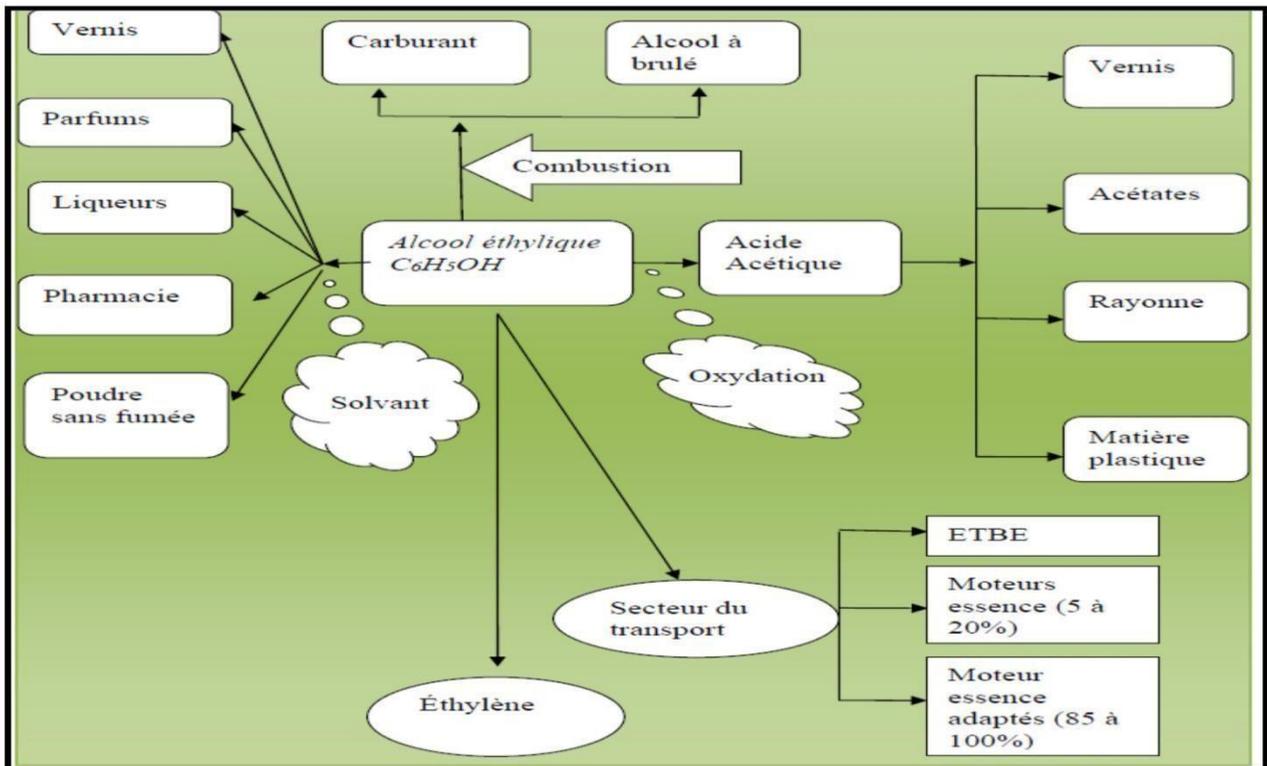
Masse molaire (g/mol)	Point de fusion (C°)	Point d'ébullition (C°)	Densité	Densité de vapeur
<b>46,7</b>	<b>-114</b>	<b>78,5</b>	<b>0,789</b>	<b>1,59</b>

L'éthanol est un composé chimiquement stable, il possède toutes les propriétés qui caractérisent les alcools (réactions d'oxydation, déshydrogénation, déshydratation et estérification). Il peut réagir vivement avec les oxydants puissants : acide nitrique, acide perchlorique, perchlorates, peroxydes, permanganates, trioxyde de chrome (**Bounoua, 2017**).

## 4. Utilisations du bioéthanol

L'éthanol est utilisé comme dans diverse domaine (figure 1) comme :

- Solvant utilisé dans l'industrie des peintures, vernis, encres, matières plastiques, adhésifs, parfums, cosmétiques, l'industrie pharmaceutique...
- Matière première pour la production de nombreux composés : acide acétique, acrylate d'éthyle, acétate d'éthyle, éthers de glycol, éthylamine, éthylène, éthers-oxydes notamment Ethyl-Tert-Butyl-Ether (ETBE)
- Constituant de carburants : peut être utilisé seul ou avec de l'essence ; les mélanges essence-éthanol renferment 5 à 95 % de bioéthanol selon les pays. En France par exemple, la réglementation fixe à 5,75 % le taux d'incorporation de bioéthanol dans l'essence en 2008 pour atteindre 10 % en 2010. Toutefois la commercialisation d'un carburant renfermant 85 % de bioéthanol et 15 % d'essence sans plomb autorisée en fin 2007, carburant alternatif composé à 85 % d'éthanol d'origine végétale (biocarburant) (E85)
  - Désinfectant, biocide.
  - Piles à combustibles.
  - Composant de boissons alcoolisées (**Bounoua, 2017**)



**Figure 1:** Domaines d'utilisations du bioéthanol (**Bounoua, 2017**)

## 5. Avantages et inconvénients du bioéthanol

Le bioéthanol comme un carburant présente des avantages et des inconvénients qui sont situés dans le tableau III.

**Tableau III** : Comparaison des avantages et inconvénients de l'utilisation du bioéthanol en tant que carburant ( **Oestling, 2001 ; Didden et Col, 2008**)

Avantages	Inconvénients
Diminution des émissions de dioxyde de carbone et meilleur rendement énergétique des moteurs à explosion	Les véhicules utilisant l'E85 produisent des émissions plus élevées d'oxyde d'azote, d'éthylène et d'acétaldéhyde que les véhicules à essence
Indice d'octane élevé permettant une meilleure efficacité des moteurs à explosions	Indice de cétane faible ne permettant pas son utilisation dans les moteurs à combustion interne sans l'ajout d'un accélérateur d'ignition
Diminution des émissions de particules, de soufre, de benzène et de butadiène 1-3	Augmentation des émissions d'hydrocarbures par évaporation nécessitant un réglage de la pression de vapeur du carburant
Risque moins élevé de formation d'ozone que l'essence et le diesel	Emission d'acide acétique en cas de réaction entre le catalyseur et le carburant résiduel à l'échappement
Biodégradable	Corrosion des pièces en contact avec l'éthanol
Utilisation flexible de 0 à 100%	Problème de stabilité de phase dans le mélange d'essence en cas de présence d'eau
Capacité énergétique inférieure à celle de l'essence (21285 kJ.kg-1 pour l'éthanol contre 32020 kJ.kg-1 pour l'essence)	Augmentation de la consommation volumique de carburant
Diminution de la dépendance au pays producteurs de pétrole	Prix encore élevé
Stimulation du milieu rural	Concurrence entre alimentation et énergie

## 6. Génération du bioéthanol

Il existe plusieurs générations de bioéthanol, trois plus précisément, ils ont été fondés sur les différentes matières premières ou biomasse dont il est produit.

### 6.1. Bioéthanol de 1ère génération

Le bioéthanol de première génération est produit à partir de maïs et de canne à sucre en utilisant une technologie bien établie. Les étapes de la production d'éthanol provenant des cultures riches en sucre et amidon sont présentées dans la (Sims et al., 2008) (figure 2).

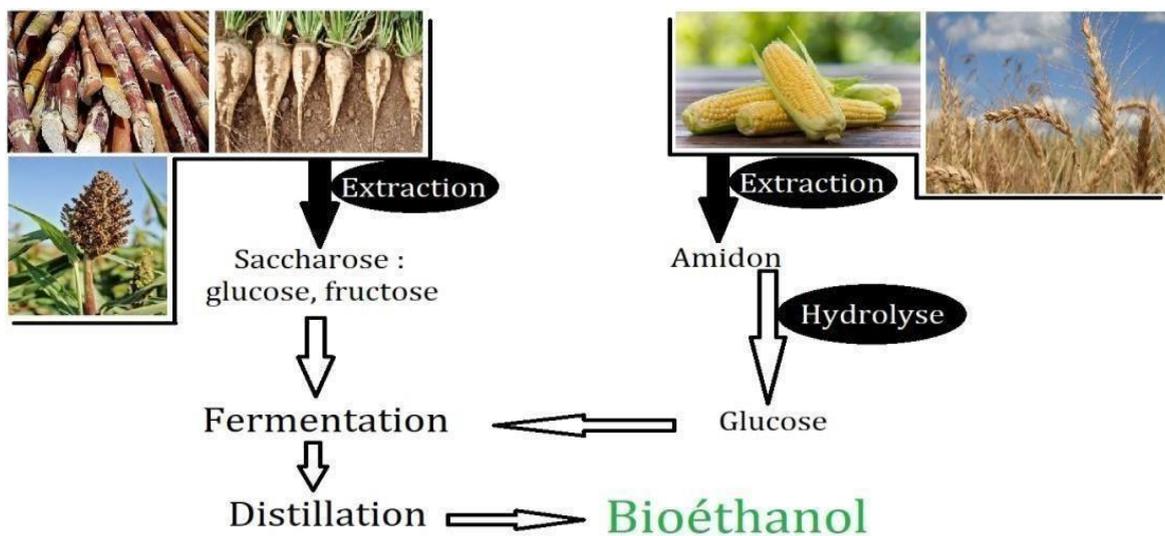


Figure 2: Etapes de production de bioéthanol 1ère génération (Sims et al., 2008).

### 6.2. Bioéthanol de 2ème génération

Le bioéthanol de deuxième génération, également appelé «biocarburant avancé», est produit par des matières premières lignocellulosique et des résidus de forêts agricoles. Les avantages de ces matières premières sont la disponibilité, contrairement à la production d'éthanol de première génération (Akbi, 2013) (figure 3).

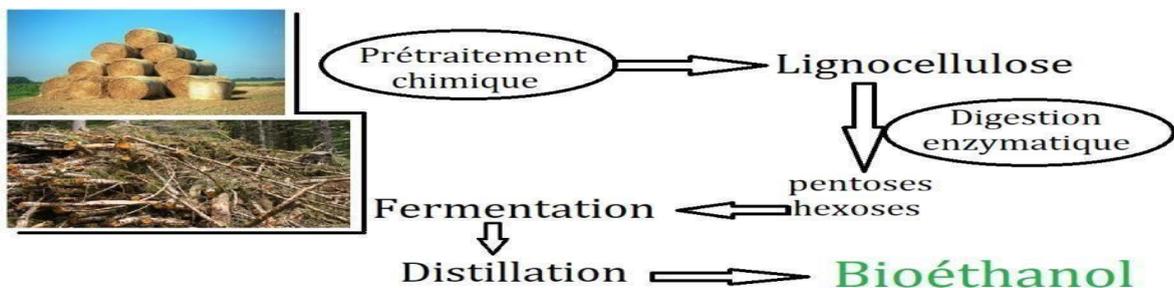


Figure 3 : Etapes de production de bioéthanol 2ème génération (Akbi, 2013)

### 6.3. Bioéthanol de 3<sup>ème</sup> génération

La production d'éthanol à partir d'amidon et de cellulose d'algues est similaire aux processus de conversion des sucres en éthanol. Elle s'appuie principalement sur l'utilisation de microorganismes tels que les micro algues. La biomasse des algues peut être utilisée pour produire une variété de biocarburants tels que l'hydrogène, le diesel, l'isobutane et l'éthanol (John et al., 2011) (figure 4).

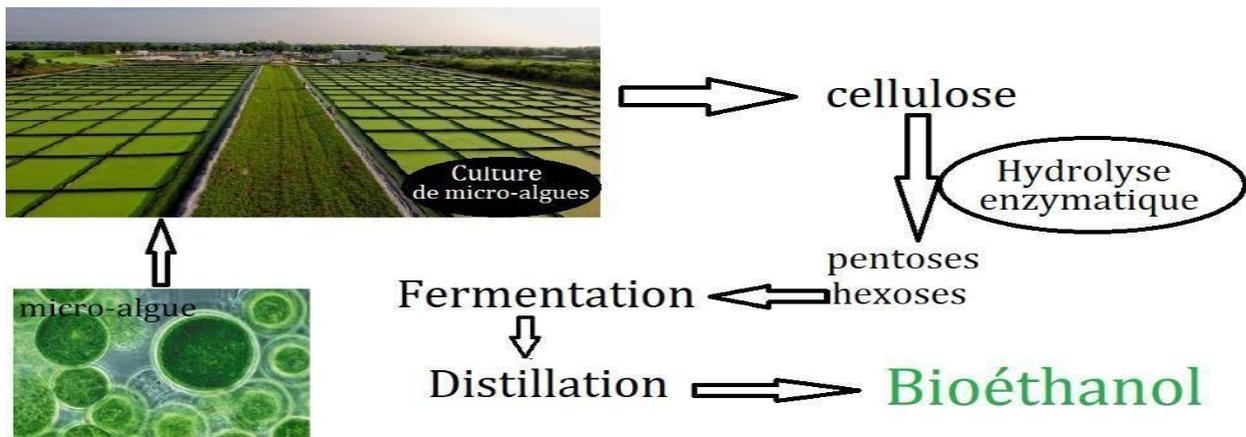


Figure 4 : Etapes de production de bioéthanol 3<sup>ème</sup> génération (John et al., 2011)

### III. Agent fermentaire « *Saccharomyces cerevisiae* »

#### 1. Définition de la levure

*Saccharomyces cerevisiae* est le micro-organisme le plus utilisé pour la production d'éthanol par la voie fermentaire. Les levures *Saccharomyces* appartiennent au règne des champignons, à la division (embranchement) des *Ascomycota* (Ascomycètes), à la sous-division des *Saccharomycotina*, à la classe des Saccharomycètes, à l'ordre des *Saccharomycetales* et à la famille des *Saccharomycetaceae*. Ces levures sont des eucaryotes unicellulaires. La taille d'une levure peut varier entre 1 et 9µm de longueur et de 1 à 5µm de largeur ; elle est de forme sphérique ou ovale et elle se divise par bourgeonnement. Leur métabolisme est de type aérobie ou anaérobie facultatif. Ces caractéristiques les plus importantes sont les suivantes d'après (Leveau et Bouix,1993) :

- elle peut résister à la pression osmotique.
- elle est stable génétiquement dans le temps.
- elle assure une bonne conversion du glucose en éthanol grâce à sa tolérance à l'éthanol.

## 2. Nutrition et conditions de culture de *Saccharomyces cerevisiae*

Les levures sont des espèces hétérotrophes, leurs développements nécessitent des composés organiques qui procurent à la fois la source d'énergie et la source de carbone assimilables sous forme de sucres. Ainsi elles nécessitent également une source d'azote, de sels minéraux et de vitamines.

Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires à la croissance. Les besoins nutritionnelles de la levure sont les suivants (**Fennouche, 2017**).

### 2.1. Eau

Les levures sont constituées de 75% d'eau et 25% de matière sèche (**Fennouche, 2017**)

### 2.2. Source de carbone

*Saccharomyces cerevisiae* est une espèce hétérotrophe. Elle exige pour sa croissance une source de carbone qui est également leur source d'énergie (**Larpent, 1991**).

### 2.3. Azote

L'apport d'azote est assuré par l'addition de l'urée ou des sels d'ammonium Comme le sulfate d'ammonium ou le dihydrogénophosphate d'ammonium.

L'azote joue un rôle capital, il entre dans la constitution de molécules simples et des macromolécules essentielles au fonctionnement cellulaire. La plupart des levures sont capables d'utiliser les sources azotées minérales simples, mais aussi des composés organiques divers, tels que les acides aminés et les peptides (**Larpent, 1991**).

### 2.4. Sels minéraux

Les sels minéraux sont des éléments indispensables pour la croissance et la multiplication des levures et les plus indispensables sont le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le cuivre, et le manganèse. Leurs déficiences ont des répercussions sur la fermentation. Toutefois, à part de le phosphore, ces éléments sont en générale présents en quantités suffisantes dans les divers milieux carbonés telle la mélasse (**Simon et Meunier, 1970**)

### 2.4. Vitamines

Les vitamines sont des régulateurs et des cofacteurs importants des voies métaboliques. Elles agissent généralement comme coenzymes ou précurseurs d'enzymes. *Saccharomyces*

*cerevisiae* est auxotrophe pour les vitamines suivantes: [biotine, choline, acide pantothénique, riboflavine, inositol, niacine, pyridoxine thiamine] qui seront ajoutées au milieu de culture (Fennouche,2007)

### 3. Avantages d'utiliser les souches de *saccharomyces cerevisiae*

Les souches de type *saccharomyces cerevisiae* présente des avantages qui sont :

- ❖ Elles sont tolérantes à de fortes concentrations d'éthanol, jusqu'à 10-12 en volume.
- ❖ Elles ne sont pas inhibées par des teneurs élevées en sucres.
- ❖ Elles sont résistantes à des pressions osmotiques importantes.
- ❖ Elles ont démontré leurs stabilités à l'échelle industrielle.
- ❖ Elles sont capables de se développer et de fermenter les sucres a des pH acides dans l'intervalle 3-4, conditions dans lesquelles sont réprimés l'apparition et le développement de contaminants bactériens dont les principaux appartiennent au genre *Lactobacillus*.
- ❖ De par leur taille, elles sont aisément séparables du milieu de culture, par centrifugation ou filtration avant d'être recyclées en fermentation.

### 4. Le métabolisme fermentaire de la levure

La fermentation alcoolique consiste en une biotransformation des jus de la canne a sucre ou toutes solutions sucrées en produit alcoolisé et fait intervenir des phénomènes physiques, biochimiques et biologiques complexes. Elle consiste en la transformation par les micro-organismes, principalement les levures comme la *Saccharomyces cerevisiae* des sucres du moût, principalement le glucose et le fructose en éthanol et en dioxyde de carbone avec dégagement d'énergie, le tout en anaérobiose selon l'équation suivante :



La fermentation dure de 40h à 72h et la température est fixée entre 25°C et 35°C. Elle se fait principalement par trois grands types : en batch, en fed-batch (semi continu) et en continu. Les procédés batch sont les plus utilisés à l'échelle industrielle.

Les fermentations sont des procédés multiphasiques. Ceci pose des contraintes biologiques et physico-chimiques. Les cellules vivantes constituent un système organisé avec des entrées de substrats, d'oxygène, de facteurs de croissance et des sorties comme le CO<sub>2</sub> et l'éthanol. La partie active de la matière vivante, constitue de protéines, nécessite un environnement adéquat du point de vue du pH et de température. Ceci permet le développement, la maintenance et la reproduction des cellules dans de bonnes conditions (Riess, 2012).

## 5. Paramètres de la fermentation alcoolique

### 5.1. Conditions de culture

*Saccharomyces cerevisiae* peut être cultivée dans un milieu liquide ou solide. L'énergie et les éléments nutritifs nécessaires à la croissance et la prolifération de la levure doivent être assurés. La compréhension des conditions de culture permet de produire des levures qui présentent des caractéristiques intéressantes. Deux types de milieu peuvent être utilisés pour cultiver la levure : un milieu riche sélectif et un milieu synthétique. Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires à la croissance et aux besoins énergétiques de la levure. La biomasse est composée principalement d'eau et des éléments CHON (carbone, hydrogène, oxygène, azote). Le milieu doit donc fournir ces éléments pour permettre la croissance **(Benaouida,2008)**.

### 5.2. Besoins des levures pour leur croissance

Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires à la croissance et aux besoins énergétiques de la levure, les principaux besoins des levures sont les suivants (Température, Ph, Oxygène, Pression osmotique, Acidité, L'inoculum):

#### 5.2.1. Température

A température faible, l'activité cellulaire microbienne peut être bloquée. L'élévation de la température augmentera la vitesse de croissance (métabolisme cellulaire sera plus actif à température plus élevée). La température optimale est comprise entre 25°C et 35°C **(Kara, 2014)**.

#### 5.2.2. pH

Le pH est un facteur très important pour la croissance de la levure (*Saccharomyces cerevisiae*) qui détermine l'activité métabolique de la cellule. Cette levure présente l'avantage de croître sur milieux acides pour lesquels la plupart des bactéries ne se développent pas. La fermentation alcoolique se déroule à un pH acide compris entre (4,5 et 5) **(Benaouida,2008)**.

#### 5.2.3. Oxygène

Il est important pour la synthèse des acides gras insaturés et des stérols qui protègent les levures du stress alcoolique. Chez des *Saccharomyces cerevisiae*, l'O<sub>2</sub> est indispensable pour assurer la survie des levures, même en présence de concentration élevée en éthanol. Son apport doit être continu tout au long de la culture **(Mounir et al., 2016)**.

### 5.2.4. Pression osmotique

Des concentrations élevées en sucres peuvent provoquer un stress osmotique sur les levures en croissance (Mounir et al., 2016).

### 5.2.5. Acidité

Plus l'acidité augmente, plus la vitesse de croissance diminue pour devenir nulle à une concentration de 5 g.L<sup>-1</sup> exprimée en équivalent acide sulfurique. La mesure de l'acidité est un paramètre complémentaire à celle du pH qui dépend du moût utilisé. Une acidité comprise entre 1,5 et 2,5 g.L<sup>-1</sup> serait un compromis entre l'effet bactériostatique et le développement optimal de la levure (Miniac, 1988).

### 5.2.6. L'inoculum

La quantité d'inoculum joue un rôle important dans la durée de fermentation, ce qui contribue à diminuer le stress causé par l'éthanol en limitant le temps d'exposition. Un inoculum apporté en quantité importante, de l'ordre de 20 g.L<sup>-1</sup>, peut permettre de diminuer, jusqu'à 80%, le temps de latence et le temps de fermentation total, d'augmenter la résistance à l'éthanol et à la pression osmotique des levures ainsi que de maintenir une viabilité cellulaire élevée tout au long de la fermentation (Riess, 2012).

## IV. Différents procédés de la fermentation alcoolique

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

### 1. Mode discontinu (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 n'est réalisé par la suite et la réaction se déroule à volume constant.

Les seules actions possibles de l'opérateur ne concernent que les variables d'environnement (pH, température, vitesse d'agitation, aération,..) (Manyri, 2005).

### 2. Mode semi-continu (fed-batch)

Ce mode de fonctionnement se distingue du précédent par un apport des différents éléments nutritifs au fur et à mesure des besoins constatés des micro-organismes.

La variation du volume du milieu réactionnel est donc une fonction directe de l'état d'avancement de la réaction. Il permet essentiellement d'éviter les problèmes d'inhibition associés au mode précédent, et de fonctionner à des taux spécifiques de croissance proches de leur valeur maximale (**Queinnec, 2000**).

### 3. 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) (**Kara Ali, 2014**). Les procédés continus fonctionnent en régime permanent, en maintenant, pour des conditions d'alimentation fixées, le système dans un état stationnaire, en évitant tout phénomène inhibiteur grâce à l'effet de dilution dû à l'alimentation (**Queinnec, 2000**).

Ces modes de fonctionnement permettent en outre des productions importantes dans des réacteurs de taille réduite et ne nécessitent pas d'importants dispositifs de stockage en amont, contrairement aux modes précédents (**Bounoua, 2017**).

## V. Procédé de distillation

### 1. Définition

La distillation est la principale opération utilisée industriellement pour la séparation et la purification des mélanges liquides, qui utilise la différence des points d'ébullition en mettant à profit la différence de volatilité (capacité à se vaporiser) entre des produits qui se trouvent mélangés et même dissous les uns dans les autres dans la matière première.

Ce procédé est utilisé dans les industries de pétrole, agroalimentaire et pharmaceutique. La distillation consiste à chauffer un mélange liquide, le composé le plus volatil se vaporise en premier, un liquide (distillat) est récupéré après la condensation de la phase vapeur, et la phase liquide non évaporée est le résidu (raffinat) (**Aggoune, 2015**).

### 2. Les types de distillation

La distillation est donc une ébullition suivie d'une condensation. Elle peut être effectuée de plusieurs manières : discontinue, continue ou sous vide.

### ➤ **Distillation discontinue**

Une distillation discontinue est une distillation où le mélange à séparer est chargé une fois dans l'installation et d'où les composants sont distillés les uns après les autres. Ceci implique un changement permanent de la composition du mélange initial et des profils de température Varga ( **Viktoria , 2006 ; Sorensen , 2014**).

### ➤ **Distillation simple**

La distillation simple fait partie des distillations discontinues. Il s'agit tout simplement d'une distillation unique, grâce à un alambic à colonne simple. On parle de distillation simple lorsque le contenu est distillé une fois uniquement. La distillation simple est utilisée principalement pour purifier un liquide ou le séparer d'impuretés non-volatiles. La substance est chauffée dans un alambic afin de récolter le distillat dans le ballon récepteur. Lorsqu'il s'agit de substance fermentée, le distillat s'égoutte en trois parties : la tête, le coeur et la queue (**Bernard, A.S; Clède, S; Emond, M; Monin-Soyer, H; Quérard, J et Dunod, 2014**).

### ➤ **Distillation continue**

Une distillation continue est une distillation où l'installation de distillation est continuellement alimentée avec le mélange à séparer. Ce type d'installation permet de travailler sans modification des profils de composition ainsi que de température (**Lakhdar, A ,2015**).

### ➤ **Distillation sous vide**

Certains produits sont trop peu volatils à pression ambiante ou se décomposent avant de s'évaporer du fait de leur haut point d'ébullition. Dans ce cas, la pression de l'installation est réduite à l'aide d'une pompe à vide afin de réduire le point d'ébullition (**Bernard, A.S; Clède, S; Emond, M; Monin-Soyer, H; Quérard, J et Dunod, 2014**).

### ➤ **distillation fractionnée**

Aussi appelée rectification, c'est un procédé de séparation par fractionnement. Son but est de séparer les différents constituants d'un mélange de liquides miscibles, possédant des températures d'ébullition différentes. Pour cela, elle exploite le même principe que la distillation classique mais se distingue par l'utilisation d'une colonne de séparation, qui permet une meilleure discrimination des constituants du mélange (**Brennan, J, 2018**). .

# Partie Expérimentale

# **Chapitre I :**

## **Matériel et Méthodes**

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### 1. Echantillonnage

Afin de produire du bioéthanol à partir de la mélasse, plusieurs protocoles, méthodes d'analyses et manipulations ont été mis en œuvre. Ces derniers sont fondés sur des travaux déjà réalisés à l'entreprise agro-alimentaire Cevital sise dans la wilaya de Bejaia.

La levure utilisée au cours des expériences réalisées et présentées dans ce chapitre est la levure *Saccharomyces cerevisiae* ou la levure de boulanger sous forme lyophilisée (sèche) de marque saf-instant. Il existe des souches et plusieurs même de cette levure destinées spécialement à l'industrie agro-alimentaire et à la production de bioéthanol.

La mélasse a été récupérée à partir du raffinage du sucre (extrait de la canne à sucre).

### 2. Analyses physico-chimiques de la mélasse de « Cevital »

L'ensemble des analyses physico-chimiques sont effectués aux niveaux des laboratoires de la raffinerie de sucre « Cevital ».

#### 2.1. Brix

Un échantillon de mélasse est dilué dix fois dans l'eau distillé, puis une quantité de la solution est versée à l'intérieure d'un réfractomètre doté d'un thermostat à 20° C. La lecture de la valeur obtenue est effectuée (ICUMCA).

La détermination du brix se fait par la relation suivante :

$$\text{Brix \%} = \text{lecture au réfractomètre} \times \text{le facteur de dilution}$$

#### 2.2. Polarisation

Un échantillon de mélasse dilué dix fois dans l'eau distillé, versé une quantité de la solution est versée à l'intérieure d'un polarimètre. La lecture de la valeur obtenue est effectuée (ICUMCA).

La détermination de la polarisation se calcule comme suis :

$$\text{Polarisation \%} = \text{lecture au polarimètre} \times \text{le facteur de dilution}$$

### 2.3. Pureté

La pureté est la relation entre la polarisation divisée sur le brix, le tout multiplier foix 100 (ICUMCA).

La détermination de la pureté se calcule comme suite :

$$\text{La pureté \%} = (\text{la polarisation} / \text{brix}) \times 100$$

## 3. Procédé de fermentation

La culture de la levure est réalisée dans un milieu de fermentation (la mélasse produite par la raffinerie de sucre de Cevital Agro-industrie) en mode batch (discontinue). Sous formes lyophilisée afin de produire du bioéthanol.

Trois tests sur les fermentations ont été mis en œuvre, le premier était d'essayer de conduire une fermentation de levure à ajouter par rapport à celle des sucres, le deuxième est de prendre en considération les concentrations des sucres dans le mélange à fermenter et le troisième est de prendre en considération la variation du pH.

Les trois tests réalisés pour essayer de comprendre les effets des paramètres étudiés pour obtenir à chaque fois une meilleure conduite de fermentation et donc une meilleure teneur en alcool. Les méthodes de préparation des moûts pour la fermentation sont présentées dans les expériences réalisées (**Annexe 1**).

### 3.1. Optimisation de quelques paramètres de la fermentation

#### 3.1.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé par introduction de la levure *Saccharomyce cerevisiae* sèche (lyophilisée) dans 10 ml d'eau distillée tiède (25°C) pour environ 20 min afin de l'hydrater (figure 6).



**Figure 6 :** Photographie de l'inoculum de la levure *S. cerevisiae*

### 3.1.2. Préparation des moûts pour la fermentation

Une fermentation est réalisée avec une substance sucrée (mélasse) à différentes concentrations et la levure *Saccharomyce cerevisiae* à différentes doses. Le suivi du déroulement des fermentations repose sur deux paramètres : le pH et la température.

#### A. Effet de la quantité de levure sur la fermentation alcoolique

Le teste est effectué avec une solution de mélasse 10% et des quantités de levure variées. La quantité de chacun des constituants du moût pour ce test est notée dans le tableau IV et la figure 7.

**Tableau IV : Préparation des moûts pour le teste N°01**

N° d'échantillon	1	2	3	4	5
Quantité de mélasse (ml)	50				
Quantité de levure (g)	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14
pH	4,8				
T (°C)	30				



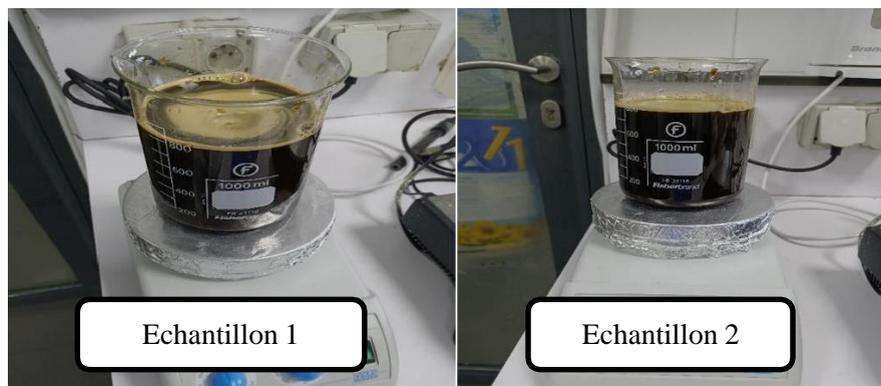
**Figure 7** : Photographie de l'expérience 1

### B. Effet de la concentration de sucres dans une fermentation alcoolique

La quantité de chacun des constituants du moût pour ce test est notée dans le tableau V et la figure 8.

**Tableau V** : Préparation des moûts à différentes concentration de mélasse

N° d'échantillons	1	2
Quantité de mélasse (g)	240	340
Brix de mélasse	25	36
Volume d'eau distillé (ml)	600	
Quantité de levure(g)	30	
pH	4,8	
T° (°C)	30	



**Figure 8** : Photographie de l'échantillon 1 et 2

### C. Effet de pH sur le taux de production

Des bouteilles de 250 ml sont remplies avec 100ml de la solution de mélasse à 10% à différents pH 4, 5, 6, 7. Les milieux sont inoculés avec une quantité de 0,18g de levure puis incubés à 25° C pendant 5 jours. Les milieux sont filtrés à la fin de la fermentation.

### 4. Procédé de distillation

Après fermentation, et afin d'extraire l'éthanol ou le bioéthanol du moût fermenté, une distillation est nécessaire. Le type de distillation choisie est la distillation simple. Le matériel utilisé comporte un ballon de 500 ml (contenant 100 ml de moût fermenté), un coude de 90°, un réfrigérant droit ainsi qu'un erlenmeyer pour récupérer le distillat est une chauffe ballon réglé à 78°C.

Un prétraitement du moût fermenté est requis avant d'entamer la distillation, il consiste en l'ajout du lait de chaux pour but de fixer les acides obtenus lors de la fermentation et ainsi, limiter leur présence dans le distillat. La pierre ponce a été ajoutée pour réguler l'ébullition, ce qui a permis d'éviter d'avoir de grosses bulles qui se forment et projettent le milieu réactionnel sur les parois du ballon et du réfrigérant.

#### 4.1. Identification de bioéthanol

Bien qu'il existe de nombreuses techniques pour déceler la présence d'alcool dans un mélange, on a choisi une manipulation simple qui consiste à mettre en évidence l'alcool par une réaction d'oxydation. Dans un tube à essai contenant quelques millilitres de l'oxydant qui est le permanganate de potassium acidifiée (acide sulfurique), ajouter quelques gouttes du distillat, et attendre 5 min afin d'observer le résultat (virage de la couleur du violet au jaune orangé).

On peut aussi confirmer la présence de l'éthanol par celle du dioxyde de carbone, pour cela, ce dernier peut être détecté grâce un montage constitué d'un tuyau de dégagement reliant hermétiquement le récipient contenant le moût à fermenter à une fiole qui contient de l'eau de chaux.

## 4.2. Calcul du taux du bioéthanol

Afin de calculer la teneur en éthanol obtenue après la distillation, le volume du distillat est complété jusqu'à 100 ml (volume du moût de départ) à 20°C avec de l'eau distillée pour avoir un mélange hydro alcoolique, puis ce volume (100 ml) est pesé afin de connaître sa masse volumique. La valeur de cette dernière est projetée soit sur la courbe présentée ci-dessous (figure 7) pour avoir le pourcentage volumique (% vol) de l'éthanol, soit dans le tableau de la masse volumique des liquides hydro alcooliques (**Annexe 2**) (**Benjamin, 2009**).

Tableau des masse volumiques des liquides hydro alcooliques (BenjaminA.,2009)

%	+0,5	+1	+2	+3	+4					
0	99820	99744	99670	99596	99523	99451	99381	99311	99241	99173
5	99106	99039	98973	98908	98843	98779	98716	98654	98592	98531
10	98471	98411	98352	98294	98235	98178	98121	98064	98008	97952
15	97897	97842	97787	97733	97679	97625	97571	97517	97463	97409
20	97356	97302	97248	97194	97140	97086	97031	96976	96921	96866
25	96810	96753	96697	96639	96581	96523	96464	96404	96344	96283
30	96221	96159	96095	96031	95966	95901	95834	95766	95698	95629
35	95559	95488	95415	95342	95269	95194	95118	95041	94963	94884
40	94805	94724	94642	94559	94476	94391	94306	94219	94132	94043
45	93954	93864	93773	93681	93588	93495	93400	93305	93209	93112
50	93014	92916	92816	92716	92616	92514	92412	92309	92206	92101
55	91996	91891	91784	91677	91570	91462	91353	91243	91133	91023
60	90911	90800	90687	90574	90460	90346	90231	90115	89999	89882
65	89765	89647	89528	89409	89289	89169	89048	88926	88803	88680
70	88556	88432	88306	88181	88054	87927	87799	87670	87540	87410
75	87279	87148	87015	86882	86748	86613	86478	86341	86204	86066
80	85927	85787	85646	85505	85362	85219	85074	84929	84782	84634
85	84485	84335	84184	84031	83877	83721	83564	83405	83245	83082
90	82918	82752	82583	82413	82239	82063	81885	81703	81518	81330
95	81138	80942	80742	80537	80327	80112	79890	79662	79425	79180
100	78924									

# **Chapitre II :**

## **Résultats et Discussion**

**1. Résultats d’analyses physico-chimiques de la mélasse**

Les résultats des analyses physico-chimiques obtenues sont montrés dans le tableau VII.

**Tableau VI** : Résultats des analyses.

<b>Paramètres</b>	<b>Valeurs</b>	<b>Normes</b>
<b>Brix</b>	<b>87,3</b>	<b>Brix &lt;63</b>
<b>Polarisation</b>	<b>52,91</b>	<b>50&lt; Polarisation &lt; 63</b>
<b>Pureté</b>	<b>60,61</b>	<b>/</b>
<b>pH</b>	<b>4,65</b>	<b>4 &lt; pH &lt; 7</b>

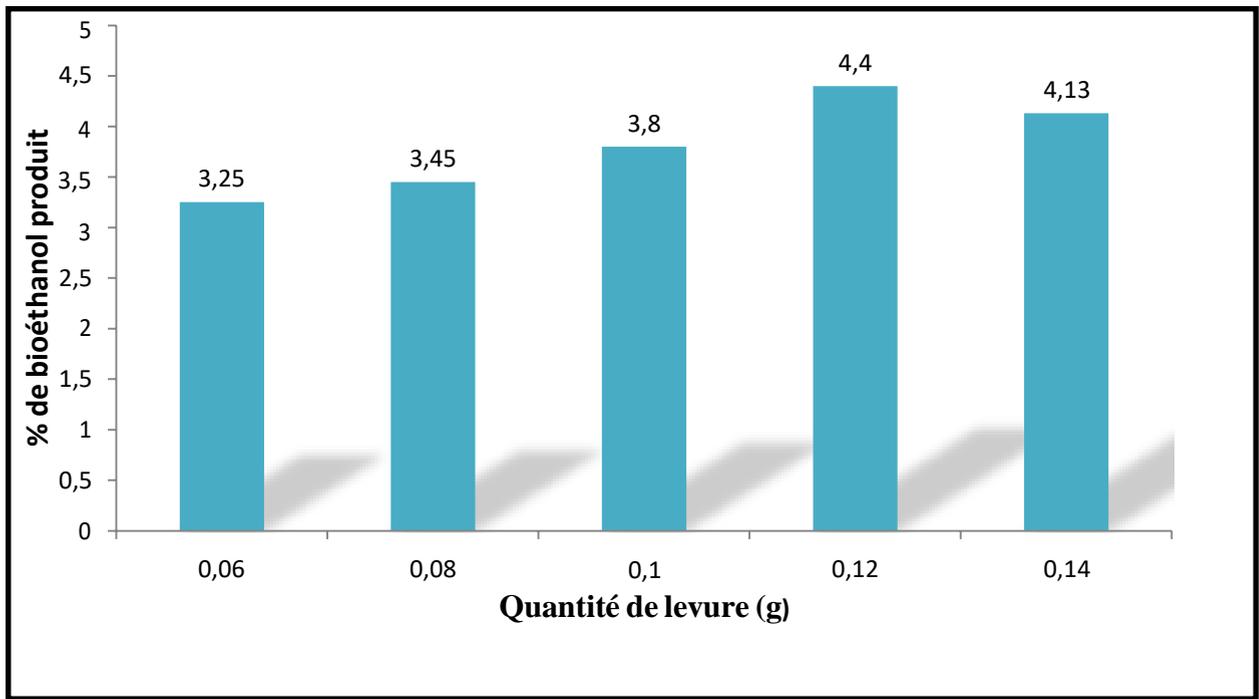
Les résultats de mesure indiquent que par rapport aux normes, la polarisation est normale, mais le brix est très élevé. Par conséquent, la pureté augmente en fonction de la quantité du brix car le processus de l’épuisement du sucre roux au niveau de « CEVITAL » n’est pas complet au cours de la récupération de notre mélasse.

La mélasse de CEVITAL présente un taux élevé de saccharose représenté par la pureté et un taux très bas en matières azotées et phosphore

**2. Résultats d’optimisation des paramètres de la fermentation**

**2.1. Effet de la quantité de levure sur la fermentation alcoolique**

L’analyse des échantillons au niveau du laboratoire physico-chimique du groupe Cevital a donné les résultats présentés dans la (figure 8).



**Figure 9 :** Histogramme de l'effet de la quantité de levure sur la fermentation alcoolique.

Les résultats indiquent que la meilleure productivité est obtenue avec une quantité d'inoculum égale à 0,12g (cette quantité est équivalente à  $4,8 \cdot 10^6$  cellules/ml). Certains auteurs ont obtenu dans leurs travaux des résultats similaires et qui sont égales à  $6 \cdot 10^6$  cellules /ml (**Fernández-lopez et al. 2011**). Les études ont été menées sur souche de *Saccharomyces cerevisiae*. En outre, les auteurs dans la même étude ont montré que l'augmentation de la taille de l'inoculum réduit la phase de latence. Une autre étude menée par **Osunkoya et Okwudinka (2011)** a obtenu le maximum de productivité d'éthanol avec une quantité de 5 g. Les travaux de **Acourene (2013)** quant à lui ont obtenu la meilleure productivité avec un inoculum de 4%.

Les résultats des taux de production d'alcool qu'on a obtenue sont faibles, en comparaison avec ceux de la littérature citée ci-dessus, ce qui explique la carence du milieu de fermentation, en matière azoté qui est une substance qui rentre dans la nutrition et la composition chimique (6,5-9,3 %) de la levure (**Acouran, 2013**) tandis que le milieu de mélasse ne contient même pas le minimum.

La productivité faible obtenue peut être liée à la capacité de la souche à produire de l'éthanol, ou aussi à la diminution des cellules vivantes et l'augmentation de nombre de cellules mortes durant les conditions du transport. Comme elle peut être lié aux méthodes utilisées et aux matériels aussi lors de la période de fermentation.

## 2.2. Effet de la concentration de sucres dans une fermentation alcoolique

Pour notre cas est de 25 %, qui est un peu supérieure à celle trouvée dans les travaux de (Abdel Moneim et al; 2012) qui est de 20%. Le meilleur rendement en éthanol obtenu est de 20ml par 100g de mélasse (mélasse contenant 50% de sucres).

Les résultats présents dans la (figure 9) ci-dessous :

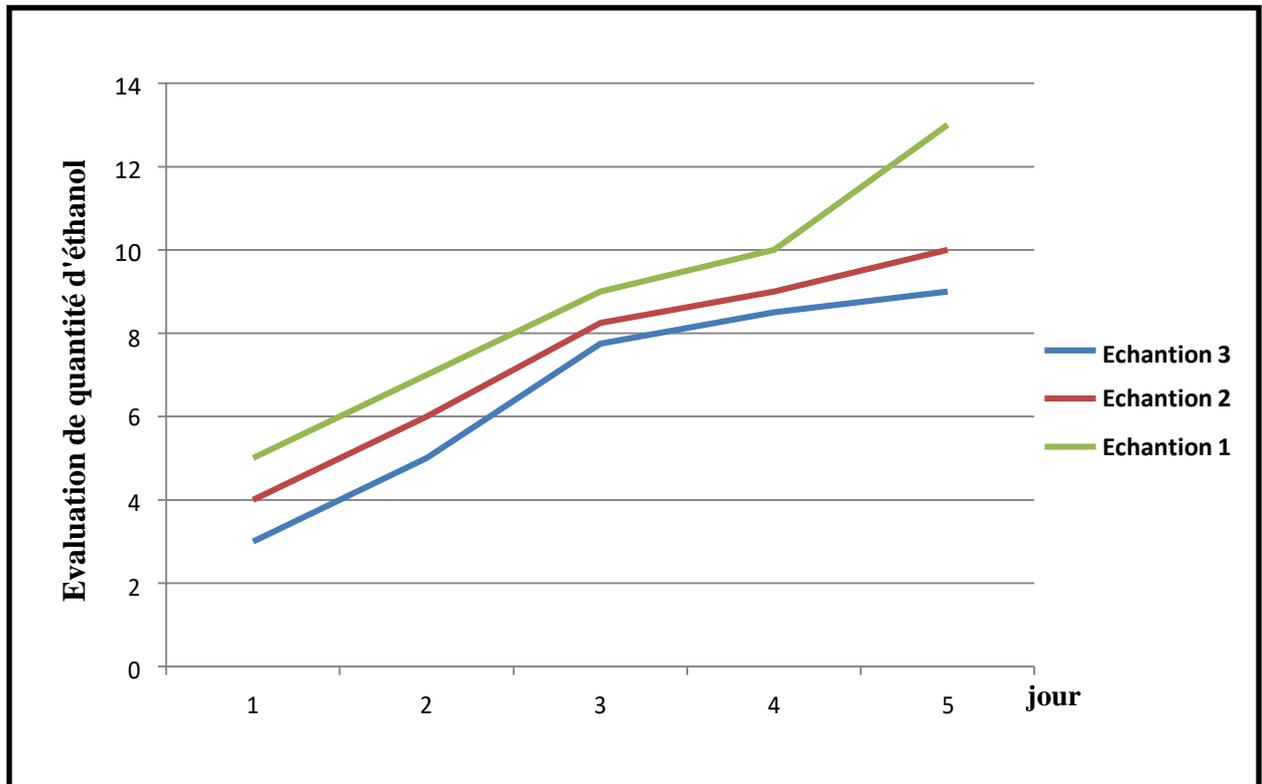
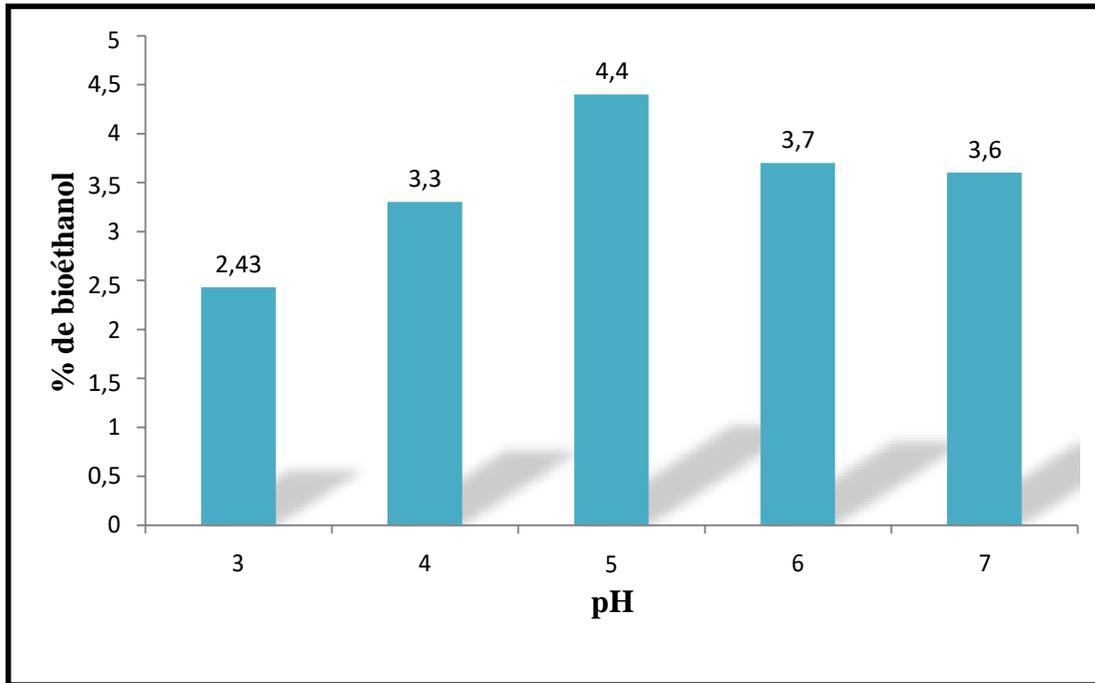


Figure 10 : Taux de production de bioéthanol

A la lumière des résultats obtenue dans La figure 9 la production maximale d'éthanol obtenue avec les cultures lyophilisées est plus élevée ce qui nous laisse dire de que ceci peut être due à la phase de lyophilisation des cellules de la culture, elles sont donc lyophilisées a phase stationnaire ça lui permet d'entrer directement dans la fermentation.

### 2.3. Taux de production de bioéthanol influences par le pH

Les résultats de L'analyse des échantillons au niveau de laboratoire physico-chimique du groupe Cevital a donné les résultats présents dans la (figure 10).



**Figure 11** : Le taux de production de bioéthanol en fonction de pH

Les résultats présentés dans la ( figure 10) indiquent que la meilleure production d'éthanol est obtenue avec un pH de 5. La valeur de productivité diminue légèrement à des valeurs supérieures à pH 5. Pour des pH de milieux basiques le taux de bioéthanol demeure relativement stable (3,60-3,70 %). La plus faible productivité d'éthanol est relative aux pH de plus en plus acide dans le milieu de fermentation. Ces résultats sont identiques à ceux décrits par les travaux de la littérature (**Thenmozhi et Victoria., 2013**) où les expériences sont menées avec la souche *Saccharomyces cereviciae* à pH 5. Les auteurs ont rapporté que la souche est plus tolérante vis-à-vis des pH acides.

### 3. Détection du bioéthanol produit :

Au cours de la fermentation, le dégagement du dioxyde de carbone a pu être détecté. L'utilisation du lait de chaux avait pour but de fixer les acides obtenus lors de la fermentation et ainsi, limiter leur présence dans le distillat.

L'identification de l'éthanol au permanganate de potassium acidifiée et après y avoir ajouté quelques gouttes du distillat, la couleur du milieu a virée du violet au jaune orangé.

Le volume des trois distillats obtenu a été complété jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée, puis pesé. La masse volumique du premier échantillon est de 0,98121 kg/L, donc et selon la table des masses volumiques des liquides hydro alcooliques, cet échantillon a une teneur en éthanol de 13%, concernant le deuxième échantillon, sa masse volumique est de 0,98235 kg/L donc son taux en éthanol est de 12,5%, et enfin le troisième échantillon, sa masse volumique est 0,98294 Kg/L de donc son taux en éthanol est de 12%. C'est une bonne production et même supérieure aux résultats obtenue **Abdel Moneim et al; (2012)** qui ont trouvé un taux de 11 %.

# Conclusion

## Conclusion

Selon la recherche bibliographique effectuée, il a été constaté que la production de biocarburant ne cesse d'augmenter dans certains pays (sud-Afrique, soudan). Le bioéthanol est très utilisé dans l'automobile et dans d'autres domaines. Puis, dans un deuxième temps, il a été noté qu'en terme d'écologie, le bioéthanol constituait un progrès dans la diminution des émissions de gaz polluants. En effet, il a été montré que le bioéthanol paraît être un carburant fiable, adaptable aux automobiles, et pouvant être produit à partir de multiples végétaux comme la mélasse étudiée dans le présent travail. Tous ces arguments montrent bien la fiabilité du bioéthanol comme carburant. Cependant, nous avons aussi vu que le développement de ce carburant pose quelques problèmes et surtout la concurrence avec la filière alimentaire qui nécessite un engagement mondial qui mettrait du temps à se mettre en place. Pour certains, la solution se trouve plutôt dans le développement d'une nouvelle génération de biocarburants, qui ne nécessite pas de surfaces cultivables qui feraient concurrence avec la filière alimentaire.

D'après les résultats obtenus, la meilleure production de bioéthanol est 4,4% dans la quantité d'inoculum égale à 0,12g, on augmentant la concentration de sucre la meilleure production de bioéthanol est 13% dans l'échantillon 1 au 5<sup>ème</sup> jour de fermentation et aussi montré que le pH 5 est donné une meilleure production de bioéthanol 4,4%.

Les travaux scientifiques étudiés dans le cadre de cette étude ont pu montrer la capacité de la souche de levure, *Saccharomyces cerevisiae* à fermenter le glucose de la mélasse en bioéthanol avec un grand dégagement de CO<sub>2</sub> susceptible d'être valorisé. La mélasse est une matière finie qui contient une grande quantité de sucres complexes (saccharose) aurait aussi l'effet de diminuer l'impact environnemental de la production d'éthanol mais aussi de diminuer les coûts de production et ainsi d'augmenter la compétitivité de l'éthanol de mélasse en tant que carburant renouvelable.

Enfin, on peut citer nombreuses perspectives découlent de cette étude :

- Une étude plus approfondie des caractéristiques physicochimiques et biologiques du la mélasse;
- Une analyse et séparation complètes des produits de fermentation afin de pouvoir récupérer les composés à valeur ajoutée synthétisés avec le bioéthanol;

- L'aboutissement des différents projets Algériens concernant les réalités industrielles pour faire fonctionner les voitures essence au bioéthanol avec ou sans modifications du moteur selon la concentration en éthanol du carburant utilisé.
- L'utilisation en Algérie du bioéthanol dans un moteur à essence à condition de posséder une voiture flex-fuel ou à moteur essence équipé d'un kit de conversion pour l'éthanol.
- Implantation des fermentations à haute densité pour la production d'éthanol à l'échelle industrielle.
- Commercialisation du bioéthanol à partir de micro-algues

# **Référence Bibliographique**

### Références bibliographiques

- Acourene, S; 2013. Valorisation biotechnologique des dattes de faible valeur marchande par la production de la levure boulangère, éthanol, acide citrique et  $\alpha$ -amylase. Thèse de doctorat Ecole Nationale supérieure d'agronomie El Harrach Alger, 32.
- Allouache, A; Aziza, M.A. et Ahmed Zaid, T; 2013. Analyse de cycle de vie du bioéthanol, *Revue des Energies Renouvelables*, 16(2), 36-357.
- Alazard-Toux, N; Ballerini, D; 2012. Répondre aux défis énergétiques et environnementaux des transports 416 p.
- Abdel Moneim, E.S; Mohammed Abdalbasit, A.G; Elamin A.E; 2012. Production of Ethanol From Sugar Cane Molasses and Evaluation of Its Quality. *Journal of Food Processing & Technology*, 3 (7), 1-3.
- Akbi A., 2013. Les implications du développement des biocarburants. Thèse de doctorat, Ecole doctorale Droit Et Sciences Politiques, Économiques et de Gestion Nice, Paris, 229 p.
- Aldiguié, A.S; Alfenore, S; Cameleyer, X; Goma, G; UribeIrrera, J.L; Guiloué, S.E; et Molina-Jouve, C; 2004. Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behavior in ethanol bio-fuel production bioprocess, 26-222.
- Alguilera, F; Peinado, R.A; Millan C; Ortega, J.M et Mauricio, J.C; 2006. Relationship between ethanol tolerance, H<sup>+</sup>-ATPase activity and lipid composition of the plasma membrane in different wine yeast strains ; *Int J food Microbiol* 42-110.
- Bai, F; Anderson, W; Moo-Young, M; 2008. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feed stocks *Biotechnol.* 89-105.

- Bauer, J; Badoud, R; Loliger, J; et Etournaud, A; 2010. Science et technologie des aliments. Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne. 473-485.
- Bayrakci, A; Kaçar, G; 2014. Second-generation of bioethanol production from water hyacinth and duckweed in Izmir. *Study renewable and Sustainable Energy Reviewes*, 306- 316.
- Benaouida, K; 2008. Etude de l'alpha amylase de levures isolées d'un écosystème extrême (sol environnant des sources thermales) et cultivées dans un milieu à base de lactosérum. Mémoire de magistère. Université mentouri Constantine. Algérie, 104.
- Benyahia, L; Benchikh, k; 2017. Valorisation de la mélasse de cevital pour production d'un biocarburant (bioéthanol), Bejaia.
- Bounoua, F; 2017. Production de bioéthanol à partir des déchets de l'industrie de transformation de pomme de terre. *Chimie et environnement*, 22.
- Boze, H; Moulin, G; Galzy, P; 2008. Production of Microbial Biomass. In *Biotechnology*, H.-J. Rehm, and G. Reed, (Wiley-VCH Verlag GmbH), 166–220.
- Brandberg, T; Lena, G et Frazén, C.J; 2007. The impact of severe nitrogen limitation and microaerobic conditions on extended continuous cultivations of *Saccharomyces cerevisiae* with cell recirculation. *Enzyme Microbial Technology*, 40, 585-593.
- Brennan, L et Owende, P; 2010. Biofuel from microalgae. A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products, 14(2), 217-232
- Dideren, I; Jacqueline, d.P. T; 2008 .Le bioéthanol de seconde génération. *presse agronomiquenomique de gembloux* p128-11.12

- Dorin, B et Gitz, V; 2008. Ecobilans de biocarburants : une revue des controverses 16(4), 337-347.
- Demeyer, A; Jacob, F; Jay, M; Menguy, G et Perrier, J; 1982. La conversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies. Edition Technique & Documentation, Paris, 187- 212p.
- Fernandez-Lopez, C.L; Torrestiana-Sanchez, B; Salgado-Cervantes, M. A; MendozaGarcia, P. G; Aguilar-Uscanga, M. G; 2012. Use of sugarcane molasses “B” as an alternative for ethanol production with wild-type yeast *Saccharomyces cerevisiae*, ITV-01 at high sugar concentrations, Bioprocess Biosyst Eng 35, 605–614.
- Fritsche, W; 1972. The Yeasts, Physiology and Biochemistry of Yeasts. Z. Für Allg. Mikrobiol. (12), 349–34.
- Kechkar, M et Aziza, M; 2012. Le bioéthanol. Revue des Energies Renouvelables, SIENR’12 Ghardaïa, 276 – 279.
- Kenzaku, T; kenji, U; koji, wada; Hironori, I et Masatsugu, Y; 2007. Phenolic Compound from Sugar cane Molasses Possessing Antibacterial activity against, cariogenic Bacteria J. Oleo Sct 56, (11) 611-614.
- Milton, A ; Yongjung Z; Gesine G; Krimi, k; Sven –UwGEI Ben; 2014. Antimicrobial colorant in molasses distillery waswater and their removal technologie, 34-43.
- Mounir.M , belgride.M, lahnaoui.S, hamouda.A, thonart.A, delvigne.F, ismaili alaoui, M(2016) maitrise de la fermentation alcoolique sous stress thermique et osmotique de la souche de *saccharomyces cereviciae* YS DN1 en vue de prepaton de vinaigre de fruit .rev. mar. Agron 4(2), 86-95.
- Novak, M.H; 2004). Valorisations non alimentaires des coproduits de la transformation de la Betterave sucrière Document réalisé dans le cadre du projet Farr-Wall-ref, 1-14.

- 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, 1597
- Raherimandimby .M et Goma, G; 1987. Etude comparative de la fermentation alcoolique de l'hydrolysa d'amidon et de la mélasse de betterave par un système de levure floculante, dans science des aliments, journal international de science et de technologie des aliments, 17(6), 507- 517.
- SADI, M; 2012. Le bioéthanol : une véritable alternative pour une énergie propre. Division Bioénergie et Environnement – CDER, (25).
- Soemarnoc, K; 2015. Second Generation Bioethanol from Arabica Coffee Waste Processing at Smallholder Plantation in Ijen Plateau Region of East JavaProcedia Chemistry , (14)408 – 413.
- Soni, S. H; Salahuddin, M. F; Gatot, S; Purwono, D; 2015. Second Generation Bioethanol from Arabica Coffee Waste Processing at Smallholder Plantation in Ijen Plateau Region of East Java, Procedia chemistry, (14), 408-413.
- Thenmozhi, R et Victoria, J; 2013. Optimization and improvement of ethanol production by the incorporation of organic wastes : Advances in Applied Science Research, 1-119.

# **Annexes**

## Annexes

### Annexe 1

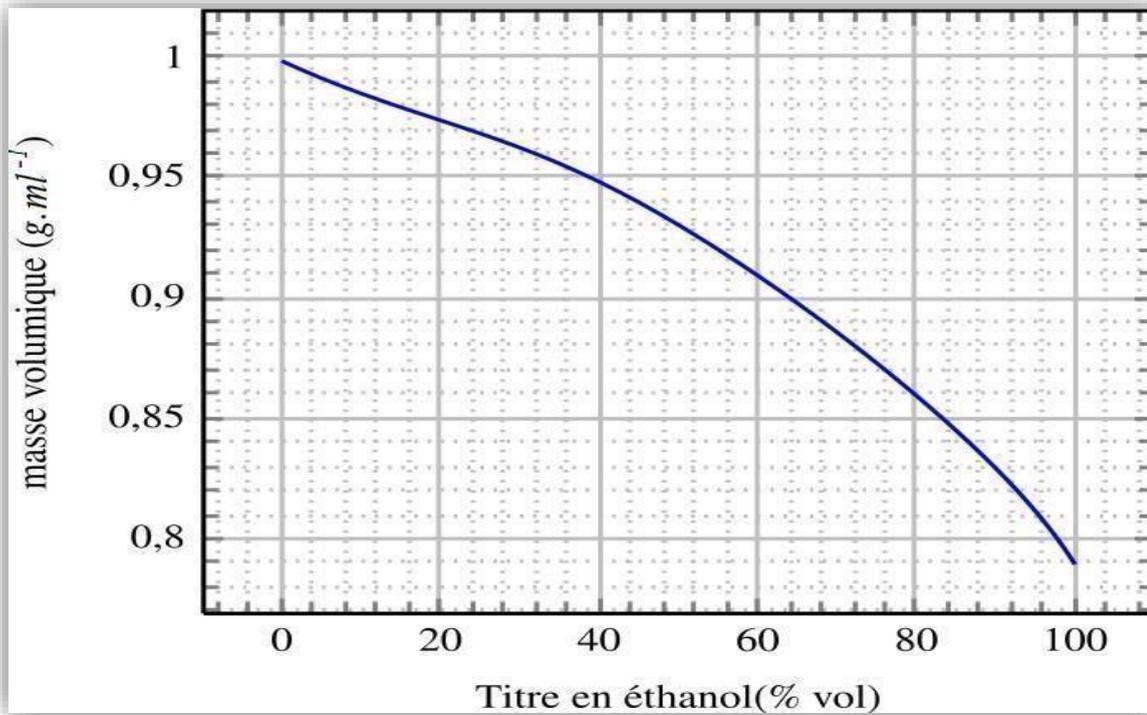
#### ➤ **Matériels analytiques**

- Agitateur magnétique
- Bain-marie
- Autoclave,
- Balance analytique
- PHmètre
- Réfractométrie

#### ➤ **Verrerie et petit matériels**

- Tubes à essai
- Papier filtrant
- Entonnoirs, bicher, éprouvette gradué
- des seringues stériles

## Annexe 2



**Figure 7 :** Courbe des masses volumiques (g/ml) de mélanges eau-alcool à 20°C en fonction du titre en pourcentage volumique (% vol) à 20°C (Benjamin, 2009)

## Résumé

La valorisation de la matière agricole et des déchets agro-alimentaires est l'objectif principal du présent travail. Le bioéthanol c'est l'une des ressources alternatives pouvant être la solution à la diminution de l'énergie fossile de la prochaine décennie. C'est un des biocarburants les plus utilisés dans le monde et qui est produit par fermentation d'une matière première riche en sucre par l'intermédiaire de levures. Le but de ce travail consiste à valoriser la mélasse un coproduit de la raffinerie du sucre roux du groupe agro-industriel Cevital (Bejaia). Ce substrat est utilisé comme milieu de fermentation pour produire un biocarburant. Le travail a été mené avec l'utilisation de la souche *Saccharomyces cerevisiae* comme agent fermentaire. La meilleure production a été obtenue à pH 5 et une quantité égale à 0,18g d'inoculum et un taux de dilution du milieu de mélasse à 10 %. Néanmoins, une faible production d'éthanol (4,51 %) est obtenue. Cette valeur de taux d'éthanol même si elle est modeste n'exclue nullement les encouragements à reprendre les travaux dans le futur.

**Mots clés :** Mélasse ; Bioéthanol, *Saccharomyces cerevisiae*, Fermentation alcoolique, Détermination du bioéthanol

## Abstract

The valorization of agricultural material and agro-food waste is the main objective of this work. Bioethanol is one of the alternative resources that can be the solution to the decrease of fossil energy in the next decade. It is one of the most used biofuels in the world and it is produced by fermentation of a raw material rich in sugar through yeasts. The aim of this work is to valorize molasses, a co-product of the brown sugar refinery of the agro-industrial group Cevital (Bejaia). This substrate is used as a fermentation medium to produce a biofuel. The work was carried out with the use of the *Saccharomyces cerevisiae* strain as fermenting agent. The best production was obtained at pH 5 and a quantity equal to 0,18g of inoculum and a dilution rate of the molasses medium at 10%. Nevertheless, a low ethanol production (4,51%) was obtained. This value of ethanol rate, even if it is modest, does not exclude the encouragement to resume the work in the future

**Keywords:** Molasses, Bioethanol, *Saccharomyces cerevisiae*, Alcoholic fermentation, Bioethanol Determination

## ملخص

إن تنمية المواد الزراعية ومخلفات الأغذية الزراعية هو الهدف الرئيسي لهذا العمل. الإيثانول الحيوي هو أحد الموارد البديلة التي يمكن أن تكون الحل لتقليل الطاقة الأحفورية ني العود المزيل. إنه أحد أكثر أنواع الوقود الحيوي استخدماً في العالم ويتم إنتاجه عن طريق تخمير مادة خام غنية بالسكر من خلال الخميرة. الهدف من هذا العمل هو تطوير دبس السكر، وهو منتج مشترك لعمل تكرير السكر البني النابع لمجموعة الصناعات الزراعية (سبنينال) بجهة (س. نستخدم هذه الركيزة كوسيط تخمير لإنتاج الوقود الحيوي. تم تنفيذ العمل باستخدام سلالة فطريات الخميرة كعامل تخمير. تم الحصول على أفضل إنتاج عند مستوى الحموضة 5 وكمية تساوي 0,18 غ من الخميرة ومعدل تخفيف لوسط دبس السكر

بنسبة 10%. ومع ذلك، يتم الحصول على إنتاج منخفض من الإيثانول (4,51%). يُؤمّد معدل الإيثانول هذه حتى لو كانت متواضعة، إلا أنه لا ينبغي بأي حال من الأحوال التخلي عن العمل على استئناف العمل ني المسمّوّل.

**الكلمات المفتاحية:** دبس السكر، الإيثانول الحيوي، فطريات الخميرة، التخمر الكحولي، تحيد الإيثانول الحيوي