

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université a. Mira de Bejaia



Faculté de Technologie
Département de Génie des procédés
Laboratoire des Procédés Membranaires et des Techniques de Séparation et de
Récupération

Mémoire

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie Chimique

Présenté par

M. ABCHICHE N. AIMENE

Thème

Valorisation de la mélasse pour la production de l'acide citrique

Soutenue le 06/07/2023

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
KACHBI Abdelmalek	MCA	Université de Béjaia	Président
SELLAMI FERHAT	MCB	Université de Béjaia	Examineur
SENHADJI OUNISSA	Professeur	Université de Béjaia	Encadrant

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Nos remerciements vont tout d'abord à Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience tout au long de ce travail.

Nous tenons à présenter nos remerciements les plus sincères à notre promotrice : Madame O. SENHADJI pour ses conseils et ses orientations.

Nous remercions les membres du jury, d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nous adressons nos vifs et sincères remerciements à l'équipe de la salle de contrôle et laboratoire de raffinage de sucre 3500 t/j au niveau du complexe CEVITAL.

Nous remercions le doctorant, et notre ami Zahir Amghar et pour toute l'équipe labo sucre 3500 t/j et l'équipe production et pour toute l'équipe commercial B2B.

Dédicaces

Je dédie ce travail à toute ma famille surtout ma petite famille

Pour mon épouse Naima, mes deux filles Kahina et Malak et pour mon petit prince Amir.

Pour mon ami Zahir Amghar et pour toute l'équipe labo sucre 3500 t/j et l'équipe production et pour toute l'équipe commerciale B2B.

M. ABCHICHE

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents pour leur soutien inconditionnel, leur tolérance durant
toutes mes années d'études,

À notre promotrice Mme Senhadji qui nous a vraiment motivé et guidé tout au
long de notre travail,

À toute ma famille.

À tous mes amis proches sans exception, avec qui j'ai eu de nombreuses et
enrichissantes conversations qui m'ont permis d'élargir l'horizon de cette
recherche,

À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

À tous ceux qui travaillent pour que cette nation soit meilleure.

N. AIMENE

Table des matières

Listes des tableaux

Listes des figures

Liste des abréviations

INTRODUCTION GENERALE.....	1
I.1 Technologie sucrière.....	3
I.1.1 Le sucre roux	3
I.1.2 Les impuretés de sucre roux.....	3
I.2 Technologie de raffinage du sucre roux	4
I.2.1 Affinage et refonte	4
I.2.2 La carbonatation	4
I.2.3 La Filtration.....	5
I.2.4 La Décoloration	6
I.2.5 La concentration.....	6
I.2.6 La cristallisation	6
I.2.7 Le Séchage	7
I.3 La mélasse	7
I.3.1 composition de la mélasse	8
I.3.4 Valorisation de la mélasse.....	8
I.5 Microorganisme producteur de l'acide citrique	12
I.5.1 Aspergillus niger	12
CHAPITRE II.....	14
PRESENTATION DE L'ENTREPRISE	14
II.1. Historique.....	14
II.2. Activités de Cevital.....	14
II.3. Situation géographique	15
II.4. Organigramme du complexe CEVITAL	15
PARTIE PRATIQUE.....	13
CHAPITRE III	30
Matériels et méthodes	30
III.1. Introduction.....	17
III.2 Matériels	17
III.2.1 Matériel végétal.....	17
III.2.3 Matériel biologique	18
III.3 Méthodes.....	18

III.3.1	Analyse physico-chimique de la mélasse	18
III.3.2	Préparation du moût	20
III.3.3	Préparation de l'inoculum	20
III.3.4	Inoculation du milieu de fermentation.....	20
III.3.5	Suivi de la fermentation	21
III. 3.6	Mesure du PH	21
III.3.7	Dosage des sucres totaux	21
III.3.8	Dosage de l'acide citrique.....	24
III.3.9	Méthode d'analyses physico-chimique de la mélasse.....	24
CHAPITRE IV	16
RESULTATS ET DISCUSSIONS	16
IV.1	Analyses physico-chimiques de la mélasse	26
IV.2.	Préparation de l'acide citrique à partir de la mélasse	27
IV.2.1	Evolution du pH	27
IV.2.3	Evolution des sucres : consommation du sucre	28
IV.2.4	Evolution de la production de l'acide citrique	30
IV. 3	Discussion des résultats	32
Conclusion	34
Références Bibliographiques	35

Liste des figures

Figure 1 :Cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs)	11
Figure 2 : Situation géographique du complexe CEVITAL	15
Figure 3 : Organigramme du complexe CEVITAL	16
Figure 4 : Courbe étalon utilisée pour le dosage des sucres réducteurs	23
Figure 5 : Courbe étalon utilisée pour le dosage de l'acide citrique.....	25
Figure 6 : Evolution de pH des trois échantillons au cours de la fermentation.....	28
Figure 7 : Evolution de l'assimilation des sucres au cours de fermentation.	29
Figure 8 : Evolution de la vitesse de consommation des sucres au cours de la fermentation..	30
Figure 9 : Evolution de la production de l'acide citrique au cours de la fermentation.	31
Figure 10 : Evolution de la vitesse de production de l'acide citrique au cours de la fermentation.	32

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les réactions principales du cycle de la chaux.	5
Tableau 2: les valeurs d'étalonnage des sucres réducteurs.....	23
Tableau 3: Résultats relatifs aux analyses physico-chimiques de la mélasse.	26
Tableau 4: Les résultats relatifs à l'évolution du pH.	27
Tableau 5: Evolution de l'assimilation et des vitesses d'assimilation des sucres au cours de la fermentation dans les deux milieux.....	29
Tableau 6: Evolution de la production et de la vitesse de production d'acide citrique au cours de la fermentation pour les trois échantillons.....	31
Tableau 7: Variation des paramètres au cours de la fermentation pour l'échantillon (1).....	32

Liste d'abréviations

- **CaCO₃** :Carbonate de Calcium
- **Ca (OH)₂** :Hydroxyde de Calcium
- **FAD** : Flavine Adenine Dinucléotide
- **NADH** : Nicotinamide Adenine Dinucléotide réduit
- **NAD⁺** : Nicotinamide Adenine Dinucléotide
- **Na₂CO₃** : Carbonate de Sodium
- **PDA** : Potato Dextrose Agar
- **PDB** : Potato Dextrose Broth

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

La mélasse, un sous-produit majeur de la production de sucre cristallisé à partir de la betterave ou de la canne à sucre, est caractérisée par sa teneur en saccharose fermentescible par des microorganismes, qui se situe généralement entre 40% et 60% [6].

Elle se présente sous forme d'un résidu sirupeux, pâteux et visqueux, avec une coloration brunâtre à noire, et elle ne peut pas cristalliser [52].

Chaque année, plus de 35.000 tonnes de mélasse de la canne à sucre sont produites par CEVITAL spa. Par ailleurs, la richesse de la mélasse en sucres et en éléments minéraux offre à celle-ci, la possibilité d'être valorisée par des procédés technologiques en divers bioproduits, en l'occurrence l'acide citrique.

Le champignon du genre *Aspergillus Niger* représente le micro-organisme de choix pour la production de cet acide organique étant donné sa stabilité génétique, ses rendements élevés, sa capacité d'utilisation du matériel bon marché [18, 28, 31, 60].

Aujourd'hui 99 % de la consommation mondiale en cet acide est produite par bioconversion[35]. Le substrat de fermentation le plus utilisé est la mélasse. L'acide citrique produit de première importance en industrie alimentaire, trouve des applications dans les industries des boissons, pharmaceutique, le tannage, la teinture, etc.[28]. L'Algérie continue de nos jours à importer cet acide organique [12].

Dans ce travail, on s'est proposé d'étudier la possibilité de produire de l'acide citrique par l'utilisation de la mélasse. La fermentation est réalisée avec aération et agitation et en milieu acide. Notre étude comporte deux étapes principales :

- une caractérisation physico-chimique de la mélasse produite niveau de la raffinerie 3500 tonnes /jour après avoir assisté à toutes les étapes de production.
- l'étude de la production de l'acide citrique par le champignon *Aspergillus Niger* et suivi de la variation du pH et de la concentration des sucres consommés et de la concentration de l'acide produit.

Ce manuscrit est structuré, en plus de cette introduction, de quatre chapitres :

Le premier englobe une recherche bibliographique sur le sucre, sa production et les sous-produits de l'industrie sucrière.

Le deuxième concerne la présentation de l'entreprise CEVITAL et en particulier l'unité de production de sucre.

Le troisième est dédié à la description de la mise en œuvre expérimentale.

Le quatrième contient l'ensemble des résultats de cette étude et leurs discussions.

Une conclusion générale qui récapitule les résultats les plus significatifs de ce travail.

Chapitre I

Recherche bibliographique

I.1 Technologie sucrière

I.1.1 Le sucre roux

Le sucre est appelé sucre brun à doré, il contient peu de minéraux et de vitamines, mais il présente des impuretés responsables de sa couleur et de son arôme spécifique, ce qui lui confère sa teinte et son goût distinctifs [20].

La teneur moyenne en saccharose dans le sucre brut est d'environ 96%, mais peut varier de 92% à 98% selon la qualité et le pays [1].

I.1.2 Les impuretés de sucre roux

A part le fait que le sucre roux contient du saccharose, il contient aussi des impuretés diverses :

I.1.2.1 Les polysaccharides

L'amidon est le polysaccharide le plus couramment trouvé, tandis que les gommes comprennent la cellulose et les hémicelluloses présentes dans les parois cellulaires des plantes[16].

I.1.2.2 Les colorants

Les colorants du sucre sont un mélange complexe de composés organiques d'origines diverses. Les colorants produits lors du processus de fabrication du sucre comprennent les caramels formés par la dégradation thermique du saccharose sans catalyse, ainsi que les mélanoidines résultant de la réaction de Maillard, qui est une condensation entre un composé carbonyle et une amine [9].

Les PDAH (produits de la dégradation alcaline des hexoses) se forment par la dégradation des mono- saccharides en milieu alcalin. L'étape principale de formation des PDAH dans l'industrie sucrière de la canne à sucre est l'épuration calco-carbonique [9].

I.2 Technologie de raffinage du sucre roux

I.2.1 Affinage et refonte

I.2.1.1 Affinage

L'affinage est une étape clé du processus de raffinage du sucre, car il permet d'améliorer la qualité en éliminant les impuretés non sucrées.

Une eau chaude est ajoutée au sucre roux pour permettre la dissolution de la couche superficielle des cristaux la plus impure [46].

Le mélange du sirop et du sucre brut donne lieu à la formation d'un magma d'affinage avec un taux de Brix (concentration en sucre) variant entre 80% et 85%.

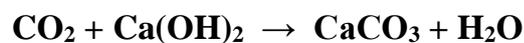
I.2.1.2 La refonte

Le sucre affiné est fondu dans un fondoir en présence d'eau sucrée et chaude à une température de 85°C. Ce processus conduit à la formation d'un sirop de refonte [38].

I.2.2 La carbonatation

L'objectif de cette étape est de maximiser l'élimination des substances non sucrées solubles et insolubles présentes dans le sirop, tout en préservant le saccharose [43].

La réaction de carbonatation est alcaline et joue un rôle important dans la clarification du jus. Le précipité formé est granuleux et se filtre facilement, comme l'illustre la réaction suivante:



Sous l'action du gaz carbonique, la chaux subit une transformation en carbonate de calcium, capturant ainsi les impuretés responsables de la coloration [23].

I.2.2.1 Lait de chaux

Le lait de chaux est composé d'un mélange de chaux et d'un peu de jus filtré[21].

Le sirop obtenu est ensuite combiné avec le lait de chaux dans des réacteurs de carbonatation [38,23].

I.2.2.2 la carbonatation

Le sirop chaulé est dirigé vers la première chaudière pour subir une réaction appelée "la première carbonatation". Le gaz carbonique est injecté régulièrement à travers une vanne pour maintenir un pH de 11, puis le produit est mélangé et envoyé à la deuxième chaudière pour subir une autre réaction appelée "la deuxième carbonatation" [23].

Le sirop carbonaté sort de cette étape avec un pH d'environ 8 et une température de 90°C, puis il est acheminé vers la section de filtration [53].

Tableau 1 : Les réactions principales du cycle de la chaux [18].

Étapes de Carbonatation	Réactions Principales
Préparation du lait de chaux	$\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{Ca(OH)}_2 + 159 \text{ kcal}$
Chaulage	Saccharose + lait de chaux \Rightarrow Saccharose de chaux
1ère et 2ème carbonatation	Saccharose de chaux + $\text{CO}_2 \Rightarrow \text{CaCO}_2 + \text{Saccharose} + \text{H}_2\text{O} + 276 \text{ kcal}$

I.2.3 La Filtration

L'objectif de cette étape est de séparer le carbonate de calcium en suspension dans le sirop carbonaté et de récupérer le petit jus.

Le sirop carbonaté est filtré à travers des filtres à bougies, permettant au liquide de passer à travers le support filtrant tandis que les particules sont retenues. Pendant que la filtration prend place, les particules déposées forment une pré-couche qui évolue progressivement en un "gâteau" dont l'épaisseur augmente. Avec le temps, la vitesse de filtration diminue en raison de l'augmentation des pertes de charge, ce qui nécessite de vider le filtre pour recommencer le processus de filtration [3, 44].

Une fois que le filtre est vidé, la boue résultante contenant du sucre résiduel passe à travers un filtre- presse où elle subit un processus de déssucrage. Le gâteau qui en résulte est ensuite lavé avec de l'eau chaude pour obtenir de l'eau sucrée, connue sous

le nom de "petit jus", tandis que les boues finales forment un gâteau solide appelé "écumes", qui est utilisé comme amendement en agriculture [3].

I.2.4 La Décoloration

I.2.4.1 Procédé de décoloration

Le procédé récemment mis en œuvre pour la décoloration des sirops de sucre de canne, notamment à la raffinerie CEVITAL, est celui des colonnes de résines échangeuses d'ions. Ces colonnes sont utilisées pour éliminer la couleur des sirops de sucre brun après le processus d'affinage et de carbonatation [50].

la résine utilisée est un copolymère anionique fortement basique avec une structure macroporeuse en polystyrène. La forte basicité des groupements fonctionnels de la résine permet d'éliminer tous les anions, y compris ceux qui sont faiblement dissociés, comme la silice [7].

La structure macroporeuse avec de larges pores, combinée à la forte basicité des groupements fonctionnels, permet d'éliminer les molécules organiques, même celles ayant un poids moléculaire élevé [55,50].

I.2.5 La concentration

Cette concentration est obtenue en portant le jus à ébullition, ce qui permet d'éliminer l'eau et de créer un sirop contenant entre 60 et 70% de saccharose.

Pour cela, le sirop est acheminé à travers une cuve sous vide, maintenue à une pression d'environ 0,2 bar et à une température inférieure à 80 °C [5].

À la fin de l'évaporation, le sirop de sucre présente un taux de pureté d'environ 93% [46].

I.2.6 La cristallisation

Lorsque le sirop est concentré dans la cuite jusqu'à atteindre une certaine viscosité, l'introduction progressive de sirop est réalisée en ajoutant des cristaux fins appelés semence, afin de démarrer le processus de cristallisation.

Les cristaux fins de la semence absorbent le saccharose et augmentent en taille jusqu'à atteindre un diamètre suffisant, puis la cuite passe à l'étape de coulée [50].

Cette dernière passe à travers les turbines centrifugeuses pour séparer les cristaux de sucre de l'eau de mer. Le sucre est ensuite évacué, séché et conditionné [42].

Dans cette étape qu'on récupère le sucre contenu dans les égouts provenant des cuites (Haute Pureté), ou des égouts pauvres d'affinage, pour leurs épuisements en sucre, cela se fait en trois étapes (jets) dans des cuites puis des centrifuges.

Les cuites sont identiques à celle de la cristallisation HP(haute pureté).

La première étape donne un sucre (A) qui peut être séché et consommé comme sucre roux ou fondu pour être réintégré au raffinage. Les jets (B) et (C) ne sont que des moyens d'épuisement complémentaires.

L'égout final de la centrifugation de la masse cuite (C) contient le non sucre et une partie équivalente de sucre qui n'est plus cristallisable qui s'appelle la mélasse[13].

I.2.7 Le Séchage

En sortant de la cristallisation, le sucre est humide à 0.05 %, On utilise un tube sécheur et un refroidisseur pour obtenir une bonne conservation puis on met le sucre dans un cylindre à air chaud pour le sécher, après on le fait refroidir dans un sécheur à lit fluidisant et enfin envoyée les silos de maturation pour finaliser la déshumidification et assurer son stockage en vrac[5].

I.3 La mélasse

La mélasse, un sous-produit majeur de la production de sucre cristallisé à partir de la betterave ou de la canne à sucre, est caractérisée par sa teneur en saccharose fermentescible par des microorganismes, qui se situe généralement entre 40% et 60% [6].

Elle se présente sous forme d'un résidu sirupeux, pâteux et visqueux, avec une coloration brunâtre à noire, et elle ne peut pas cristalliser. Sa densité moyenne est d'environ 1,4 [52].

I.3.1 composition de la mélasse

La mélasse peut contenir différents nutriments, arômes, couleurs, viscosité et sucres totaux.

I.3.1.1 Sucres

Tous les types de mélasse contiennent des quantités relativement élevées de sucres totaux, qui constituent leurs valeurs nutritionnelles les plus importantes [14].

I.3.1.2 Protéines

Les diverses mélasses contiennent des quantités importantes de produits composés azotés non protéiques, tels que les amides, les albuminoïdes, les acides aminés et les composés azotés simples avec des quantités minimales de protéines [14].

I.3.1.3 Minéraux

La mélasse de canne ou de betterave contient des minéraux, tels que le potassium, le magnésium, le sodium, le chlorite, les sulfures, et des traces de fer, manganèse, zinc et de cuivre. En général, la canne à sucre est la plus riche en calcium, phosphore et chlore, et la betterave en potassium et sodium[14].

I.3.1.4 Vitamines

La mélasse contient des ensembles hautement actifs de vitamines de vitamines B [39], par conséquent la teneur en vitamines de la mélasse finale est étroitement liée aux processus d'extraction du sucre [14].

I.3.4 Valorisation de la mélasse

I.3.4.1 Alimentation des animaux

La mélasse est une alternative idéale pour l'accroissement de l'appétibilité pour favoriser l'ingestion des aliments peu appétibles, à la place des glucides couteux, en introduisant la mélasse dans alimentation de bétail[39, 47].

I.3.4.2 Fabrication du rhum

Le rhum produit de la mélasse est le rhum traditionnel : il est issu de la distillation de la mélasse, en passant par six phases consécutives :

- Dilution, Inoculation, Fermentation, Distillation, Maturation et vieillissement

I.3.4.3 Production de bioéthanol

Industriellement, le bioéthanol est produit grâce à la biochimie, en traitant de la biomasse par fermentation : de plantes sucrières, comme la canne à sucre et la betterave La souche utilisée : Dans la production de bioéthanol, les « Saccharomyces » sont les levures les plus utilisées, telles que les « Saccharomyces cerevisiae », pour leurs avantages : - La croissance rapide, sur un substrat peu coûteux. - La capacité de fermenter le milieu le plus rapidement possible et produire de l'éthanol avec un rendement proche du rendement théorique. - Peu exigeantes en facteur de croissance pour limiter les additions en vitamines aux milieux industriels [53].

I.3.4.4 Production de levure

La mélasse joue un rôle essentiel en tant que milieu de culture de la levure [55]. Dans ce processus, la levure de boulangerie, *Saccharomyces cerevisiae*, est cultivée dans des cuves spéciales contenant de la mélasse de sucrerie, des éléments azotés et des minéraux. Ce milieu de culture est maintenu à une forte teneur en oxygène pour favoriser la multiplication des levures [29].

I.3.4.5 Production de l'acide citrique

L'acide citrique (acide 2-hydroxy-1,2, 3-propanetricarboxylique) est très diffus dans la nature [24].

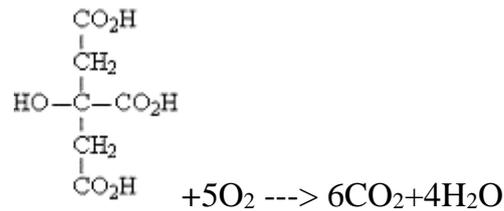
Il est solide, blanc, incolore, inodore, d'une saveur excessivement aigre.

I.3.4.5.1 Métabolisme de l'acide citrique cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs)

Toutes les réactions de la voie glycolytique conduisant à la formation d'acide pyruvique ont lieu dans le cytosol. La formation d'acétyl CoA et de CO₂ à partir de l'acide pyruvique et les huit réactions importantes qui composent le cycle de l'acide citrique sont toutes catalysées par des enzymes situées dans la matrice ou dans la

membrane interne de la mitochondrie. Pour chaque résidu acétate entre dans le cycle, deux nouvelles molécules de CO₂ et deux molécules d'eau sont produites.

La totalité de la réaction d'oxydation complète du pyruvate, via l'acide citrique et la chaîne des transporteurs d'électrons, s'écrit ainsi:



Le cycle de l'acide citrique est aussi appelé le cycle de **KREBS**.

En effet, **Hans KREBS**, vers 1940, a décrit les différentes étapes réactionnelles et a montré qu'il s'agissait d'un cycle. Ce cycle porte aussi le nom de cycle de l'acide tricarboxylique car plusieurs intermédiaires de ce cycle ont trois groupes carboxyles. Le résidu acétate à deux carbones de l'acétyl CoA se condense d'abord avec l'acide oxaloacétique à quatre carbones pour former l'acide citrique à six carbones. Au cours des étapes 4 et 5, deux groupes carboxyles de l'acide isocitrique sont enlevés pour former deux molécules de CO₂. De plus, quatre atomes d'hydrogène sont transférés au NAD⁺ pour former deux molécules de NADH réduit. La succinate déshydrogénase (fixée à la membrane interne de la membrane mitochondriale).

Dans cette réaction, deux atomes d'hydrogène sont transférés depuis l'acide succinique vers FAD, ce qui donne de l'acide fumarique et du FADH₂.

Une autre oxydation se produit lorsque l'acide malique est converti en acide oxaloacétique à la suite du transfert de deux atomes d'hydrogène vers NAD⁺.

Un nouveau résidu acétate se condense ensuite avec l'axaloacétate pour reformer la molécule d'acide citrique, permettant de démarrer un nouveau cycle [58].

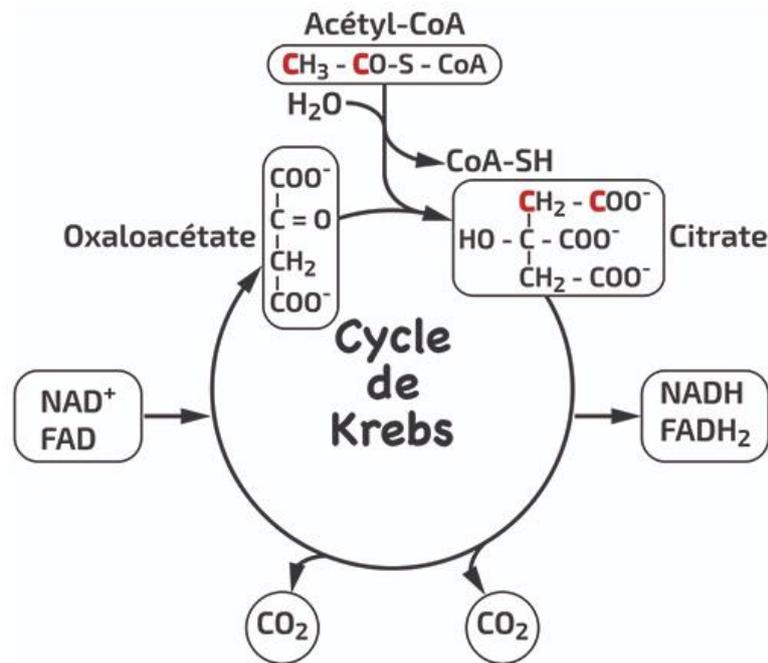


Figure 1: Cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs) [52].

I.3.4.5.2 Applications de l'acide citrique

L'acide citrique est utilisé en industrie alimentaire et pharmaceutique.

I.3.4.5.2.1 Industrie alimentaire

Il est utilisé comme additif (boisson, confiture, etc...).

Dans les boissons, il est utilisé en général comme rafraîchissante ou effervescente.

Dans la fabrication des bonbons, dans la conservation des fruits, de poisson, des glaces, des friandises en général, les sauces, les jus et sirops de fruit.

Dans celle des plastiques sous la forme d'esters.

Dans la purification des métaux grâce à son pouvoir chélatant[10].

I.3.4.5.2.2 Industrie pharmaceutique

·L'acide citrique favorise indirectement la croissance des os en facilitant l'assimilation du calcium et en régulant la taille des cristaux de calcium dans les os.

Il est utilisé comme composant de solutions d'irrigation vésicale.

L'acide citrique et ses sels empêchent une coagulation sanguine du sang conservé.

Il est utilisé comme solution de rinçage lors de traitements du canal radiculaire en médecine dentaire.

Dans les poudres et comprimés effervescents, l'effet effervescent est obtenu grâce à l'acide citrique et le bicarbonate de sodium [10].

I.5 Microorganisme producteur de l'acide citrique

I.5.1 Aspergillus niger

Aspergillus niger est un champignon filamenteux qui se développe en aérobiose sur la matière organique.

Dans la nature, on le trouve dans le sol et de la litière, dans le compost et le matériel végétal en décomposition.

Aspergillus Niger est capable de croître dans la plage température large de 6–47 ° C avec une température relativement élevée avec un optimum de 35 à 37 ° C. La limite d'activité de l'eau pour la croissance est 0,88 (aw) qui est relativement élevée comparativement aux autres espèces d'*Aspergillus*.

Aspergillus Niger peut pousser sur une très large gamme de pH : 1,4–9,8.

Ces capacités et l'abondante production de conidies, qui sont distribués par l'intermédiaire de l'air, garantissent l'occurrence omniprésente de l'espèce, avec une fréquence élevée aux lieux chauds et humides [50].

I.5.1.1 Les exigences nutritionnelles et culturelles des Aspergillus

Parmi les éléments essentiels on trouve :

Le carbone

Les Aspergillus sont capables de métaboliser divers composés carbonés tels que le glucose, le fructose, le mannose, le saccharose et le maltose [49].

L'azote

Il convient de souligner que la source et la concentration d'azote ont un impact significatif sur la croissance d'Aspergillus et la synthèse de l'acide citrique.

Les sels minéraux

Les sels minéraux jouent un rôle essentiel dans la croissance et la multiplication des Aspergillus, et des déficiences ou des excès de ces sels minéraux ont des effets néfastes sur la fermentation. Par exemple, une concentration élevée en phosphore entraîne une augmentation de la croissance cellulaire mais une production réduite d'acide citrique [48].

Chapitre II
Présentation de l'entreprise
Cevital SPA

II.1. Historique

Cevital fait partie des entreprises Algériennes qui ont vu le jour dès l'entrée de notre pays dans l'économie de marché, elle a été créée par des fonds privés en 1998. Elle se situe au niveau du quai port de Bejaia et s'étend sur une superficie de 45 000 m². En agroalimentaire, elle offre des produits de qualité supérieure et avec des prix compétitifs, grâce à son savoir-faire, ses unités de production ultramodernes, son contrôle strict de qualité, et son réseau de distribution performant satisfaisant.

En 1999, entrée en production de la raffinerie d'huile et lancement de la première marque d'huile, puis la margarinerie en 2001 après la raffinerie de sucre en 2003. En Avril 2005, Lancement de trois nouveaux projets.

II.2. Activités de Cevital

En mai 1998, Le complexe Cevital a commencé son activité par le conditionnement d'huile en décembre. En février 1999, les travaux de génie civil de la raffinerie d'huile ont débuté. Cette dernière est devenue fonctionnelle en Août 1999.

L'ensemble des activités de Cevital sont basées sur la production et la commercialisation des huiles végétales, de margarine et du sucre qui se présente comme suit :

- Une raffinerie d'huile.
- Une unité de conditionnement d'huile.
- Une margarinerie.
- Deux raffineries de sucre de 3000 et 3500 t/j
- Une unité de fabrication d'emballage.
- Une unité de stockage de céréales.
- Unité de trituration des graines oléagineuses 11 000 t/j
- Une savonnerie.

Et d'autres projets sont en cours d'étude

II.3. Situation géographique

Le complexe Cevital est implantée au niveau du port de Bejaia à 3 Km du sud-ouest de cette ville, à proximité de la RN26. Cette situation géographique de l'entreprise est d'un grand profit en lui conférant l'avantage de proximité économique, en effet elle se trouve proche du port et aéroport de Bejaia.



Figure 2: Situation géographique du complexe CEVITAL

II.4. Organigramme du complexe CEVITAL

Les différentes directions et services de « CEVITAL », sont schématisés dans l'organigramme (figure 3) :

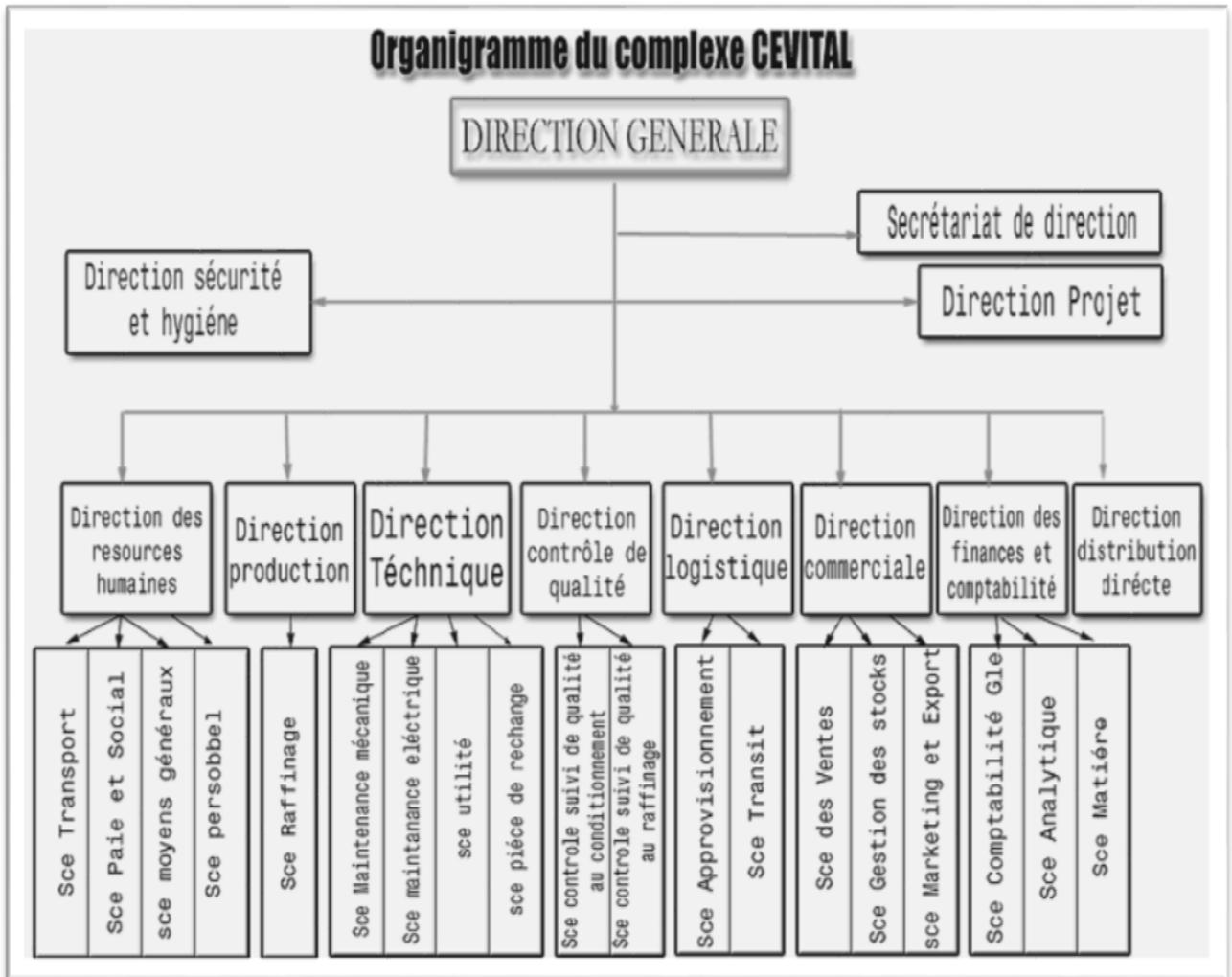


Figure 3: : Organigramme du complexe CEVITAL

Partie pratique

Chapitre III

Matériels et méthodes

III.1. Introduction

L'objectif de notre travail est d'étudier la possibilité de la valorisation de la mélasse pour la production de l'acide citrique.

Pour cela, plusieurs méthodes d'analyses, protocoles et manipulations ont été mis en œuvre. Ces méthodes, protocoles et dispositifs expérimentaux qui vont être présentés dans ce chapitre ont été sélectionnés pour :

- Analyse des caractéristiques physico-chimiques de la mélasse.
- Préparation de l'inoculum, et du mout dont :
 - Dosages des sucres réducteurs présents dans la mélasse.
 - Dosage de l'acide citrique produit

III.2 Matériels

III.2.1 Matériel végétal

Nous avons utilisé la mélasse de la canne à sucre produite au niveau de la raffinerie de sucre 3500T/J, qui contient des sucres réducteurs susceptibles d'être facilement assimilés par les micro-organismes.

III.2.2 Matériels utilisés pour les analyses physico-chimiques de la mélasse

Pour l'analyse physico-chimique de la mélasse, nous avons étudié les paramètres suivants : le Brix (%), la polarisation (%), la pureté (%), l'absorbance visible à 420 nm, la couleur, la densité et le pH.

Le matériel utilisé pour effectuer les analyses physico-chimiques de la mélasse sont :

- 1-Réfractomètre (RFM3402).
- 2-Diluteur automatique mené d'une balance de précision REI (ACCULAB3).
- 3- Polarimètre (POLASER-S4).
- 4-Agitateur Rotateste (SM-30 CONTROL 5).

- 5-Étuve (Memmert 5006).
- 6-Ordinateur mené du logiciel (CLEOPATRE).
- 7- pH-mètre (HANNA instruments).
- 8- Densimètre (Anton Paar DMA 4500M).
- 9- Spectrophotomètre (Thermo scientific).

III.2.3 Matériel biologique

Le micro-organisme utilisé est une moisissure du genre *Aspergillus Niger*. Il s'agit d'une souche pure de la collection du laboratoire de microbiologie LMA (BEJAIA). La souche a été conservée à 4 °C sur PDB au glycérol (Potato Dextrose Broth) bouillon dextrose à la pomme de terre.

III.3 Méthodes

III.3.1 Analyse physico-chimique de la mélasse

Les méthodes utilisées pour les analyses physico-chimiques de la mélasse sont les suivantes :

Le Brix (%)

L'échelle de Brix est utilisée pour quantifier en degrés Brix la concentration de saccharose dans un liquide, ce qui correspond au pourcentage de matière sèche soluble. Plus le degré Brix est élevé, plus l'échantillon est sucré.

La mesure de la teneur en matière sèche des produits sucriers est effectuée en déterminant l'indice de réfraction à l'aide d'un réfractomètre thermostable réglé à 20°C.

$$\text{Brix} = \frac{\text{quantité de matière sèche}}{\text{quantité de solution}} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

Pour réaliser une mesure, on fait comme suite :

Tout d'abord, une quantité de 20 à 30g de mélasse est prélevée, puis diluée jusqu'à un volume final de 10 à l'aide d'un diluteur automatique. Ensuite, la solution est agitée dans un agitateur pendant quelques minutes pour assurer une dissolution et une homogénéisation complètes. Par

la suite, la solution est filtrée à l'aide d'un papier filtre et une petite quantité de terre infusoire est utilisée pour faciliter la filtration.

Enfin, une partie de la solution filtrée est versée dans le réfractomètre, et la valeur numérique est lue pour obtenir le résultat.

Brix (%) = lecture au réfractomètre \times facteur de dilution

La polarisation

La polarisation est définie comme le rapport entre la quantité de sucre contenue dans la solution

$$\text{Pol \%} = \frac{\text{quantité de sucre}}{\text{quantité de solution}} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

La mesure est réalisée comme suit : On verse une quantité de la solution déjà filtré précédemment dans le polarimètre et lire la polarisation.

Ensuite, le résultat est exprimé comme suite :

Pol(%) = lecture au polarimètre \times K \times facteur de dilution

K= 0,20 si le poids normal du saccharimètre est 20.

K= 0,26 si le poids normal du saccharimètre est 26.

La pureté % :

La pureté est le rapport entre la teneur en saccharose mesurée par la polarisation et la teneur en matière sèche réfractométrique.

$$\text{Pureté} = \frac{\text{Polarisation}}{\text{Brix}} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

Ou :

$$\text{Pureté} = \frac{\text{teneur en saccharose}}{\text{Teneur en matière sèche}} \times 100 \dots\dots\dots (3')$$

Le pH

Le principe de mesure consiste à évaluer le potentiel d'hydrogène (pH) de la solution. Pour ce faire, l'électrode est d'abord neutralisée en utilisant des solutions tampon aux pH de 7 et 10.

Ensuite, elle est rincée avec de l'eau distillée avant d'être immergée dans la solution de

mélasse. La lecture est effectuée quelques minutes après, une fois que le potentiel d'équilibre à travers l'électrode est atteint.

Pour commencer, une quantité de mélasse de 25g à 30g est prélevée dans un pot en utilisant une balance de précision. Une dilution est réalisée en utilisant un diluteur automatique. Ensuite, la solution est agitée dans un agitateur pendant quelques minutes pour assurer une dissolution et une homogénéisation complètes. Enfin, la sonde du pH-mètre est insérée dans la solution homogène et la valeur affichée sur le pH-mètre est relevée.

III.3.2 Préparation du moût

Nous avons préparé dans des erlenmeyers de 1litre, trois échantillons de 300 ml de solution de mélasse à 14% de sucres totaux à partir d'une mélasse 79% sucres totaux ; 60 g de mélasse de 79% de sucre totaux ajuster avec 240 ml d'eau distillée chauffée à 80 °C afin de dissoudre facilement la mélasse, et de ne pas porter atteinte à la qualité de la mélasse.

Les trois échantillons préparés sont ajustés à pH de 3,5 et 5,5 respectivement par une solution d'acide sulfurique 1N.

III.3.3 Préparation de l'inoculum

Cette préparation a été faite en collaboration avec un doctorant du laboratoire de biologie LMA.

La souche estensemencée stérilement dans 10 boîtes de pétri contenant 10 ml de milieu PDA(Potato Dextrose Agar). Après 7 jours d'incubation à 30 °C, des spores apparaissent à la surface de la gélose et du tapis mycélien. Elles sont récupérées dans de l'eau distillée Tweennée stérile (Tween 80 à 1%) puis dénombrées à l'aide de la cellule de Thomas. La suspension fongique est ensuite diluée de façon à obtenir une concentration de $1,5 \cdot 10^7$ spores/ml. Cette concentration suffit pour inoculer 50 ml de moût.

III.3.4 Inoculation du milieu de fermentation

Nous avons par la suite, procédé à l'ensemencement des trois échantillons de 300 millilitres de moût avec la suspension fongique. La fermentation a été menée en

aérobiose et suivie pendant 14 jours à une température de 32°C et sous agitation à 180t/min pour les échantillons 1 et 2, et sans agitation pour l'échantillon 3.

III.3.5 Suivi de la fermentation

Des prélèvements d'une prise d'essai de 20 ml sont effectués au début de la fermentation ensuite après 7 jour et en fin après 14 jours. Ces derniers serviront à l'étude de la cinétique de production de l'acide citrique, contrôlée par la détermination de :

- la teneur en acide citrique.
- la teneur en sucres résiduels.
- l'évolution du pH.

III. 3.6 Mesure du PH

La détermination du pH est essentielle pour le contrôle du goût, avant et au cours de la fermentation. Sa variation renseigne sur l'activité métabolique du champignon, donc sur la transformation des sucres en citrates. La détermination du pH s'effectue dans les conditions de la présente étude par une lecture directe à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné.

III.3.7 Dosage des sucres totaux

La méthode de DUBOIS est utilisée pour doser les sucres totaux en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré. Lorsque ces réactifs sont présents, les sucres produisent une coloration jaune orangé, dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration des sucres totaux. Pour mesurer cette intensité, la densité optique est déterminée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 490 nm[15].

Etapas de la méthode

a-Extraction des sucres

- Peser 10g de l'échantillon finement broyé et on les mettre dans un bécher de 250ml;
- Ajouter 90ml d'eau distillée ;

-L'extraction s'effectue dans un bain marie durant 30mn à 100C° tout en agitant de temps à l'aide d'une baguette en verre ;

-Filtrer sur un papier filtre ;

-Compléter avec l'eau distillée à 100ml ;

b-Clarification:

-Ajouter 10ml d'acétate de plomb pour la destruction des protéines;

-Agiter jusqu'à l'apparition d'un précipité qui se sédimente au fond du bécher;

-Filtrer à l'aide d'un papier filtre.

c-Elimination de l'acétate de plomb:

-Additionner au filtrat 1g de Na_2CO_3 pour précipiter l'acétate de plomb;

-Filtrer la solution afin d'éliminer le plomb précipité;

d-Dilution:

-Diluer la solution jusqu'à 100 fois.

e-Dosage des sucres:

-Ajouter 0,1ml de phénol et 3ml d'acide sulfurique concentré;

-La lecture de l'absorbance se fait au spectrophotomètre à 490nm.

Tableau 2: s valeurs d'étalonnage des sucres réducteurs.

Etalonnage				
Echantillons	[Glucose] g/l	DO		
		Essai 1	Essai 2	Moyenne
1	1,33	0,27	0,255	0,2625
2	1	0,217	0,214	0,2155
3	0,67	0,165	0,165	0,165
4	0,5	0,137	0,149	0,143
5	0,4	0,124	0,116	0,12
6	0,33	0,12	0,117	0,1185
7	0,286	0,106	0,102	0,104
8	0,25	0,105	0,111	0,108
9	0,22	0,094	0,094	0,094
10	0,2	0,095	0,094	0,0945

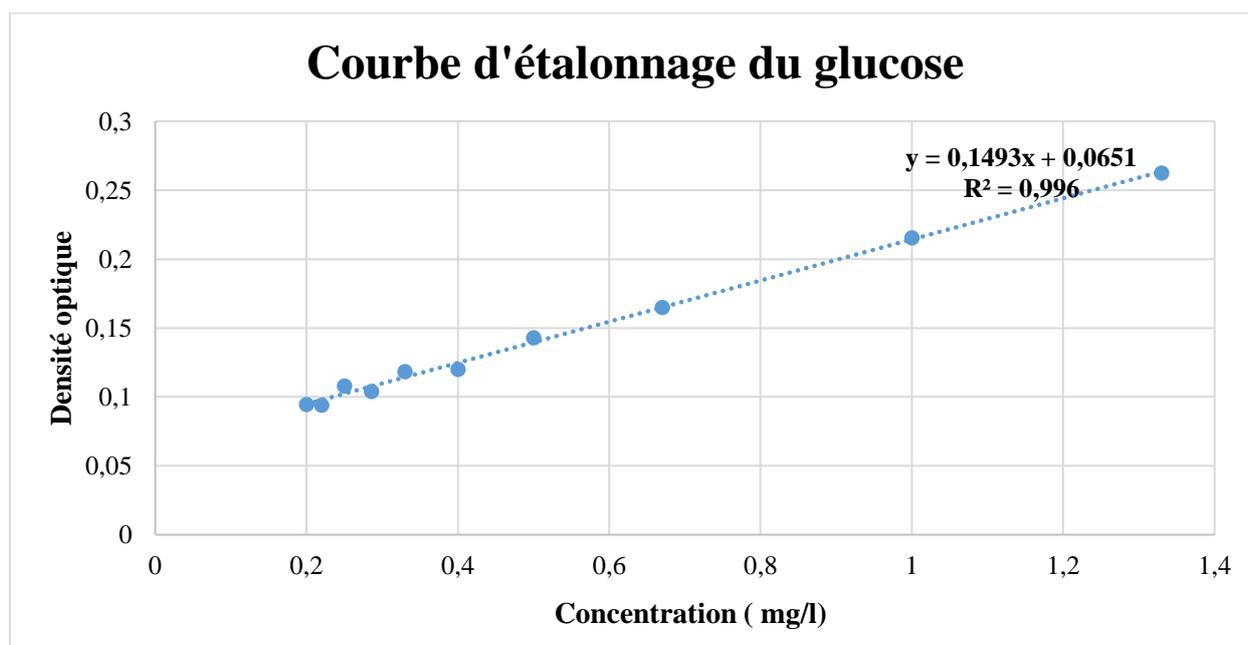


Figure 4: Courbe étalon utilisée pour le dosage des sucres réducteurs

III.3.8 Dosage de l'acide citrique

La méthode utilisée pour doser l'acide citrique est la méthode de MARIER et BOULET (1958). Elle repose sur une réaction de coloration qui se produit lorsque la pyridine et l'anhydride acétique agissent ensemble à 32°C en présence d'acide citrique. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en citrates. Pour mesurer cette intensité, la densité optique est lue à une longueur d'onde de 420 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible[15].

Mode opératoire

Dans un bain de glace, on introduit un tube à essai contenant 1ml de milieu de fermentation filtré auquel on ajoute 1.3ml de pyridine.

Le mélange agité vivement au vortex, reçoit ensuite 5,7ml de l'anhydride acétique.

Après une deuxième agitation de 30 secondes, le tube est transféré dans un bain marie à 32°C.

Le développement de la coloration jaune est complet au bout de 30mn.

Une droite étalon est établie préalablement (figure10) avec des solutions d'acide citrique connues variant de 20mg/l à 300mg/l.

Tableau 3: Les valeurs d'étalonnage d'acide citrique

Tubes	concentration d'acide citrique (solution mère) (mg/l)	concentration d'acide citrique (mg/l)	H2O (ml)	pyridine	Anhydride Acétique (ml)
1	1	300	280	1,3	5,7
2	1	280	260	1,3	5,7
3	1	240	220	1,3	5,7
4	1	200	180	1,3	5,7
5	1	180	160	1,3	5,7
6	1	140	120	1,3	5,7
7	1	100	80	1,3	5,7
8	1	60	40	1,3	5,7
9	1	20	0	1,3	5,7

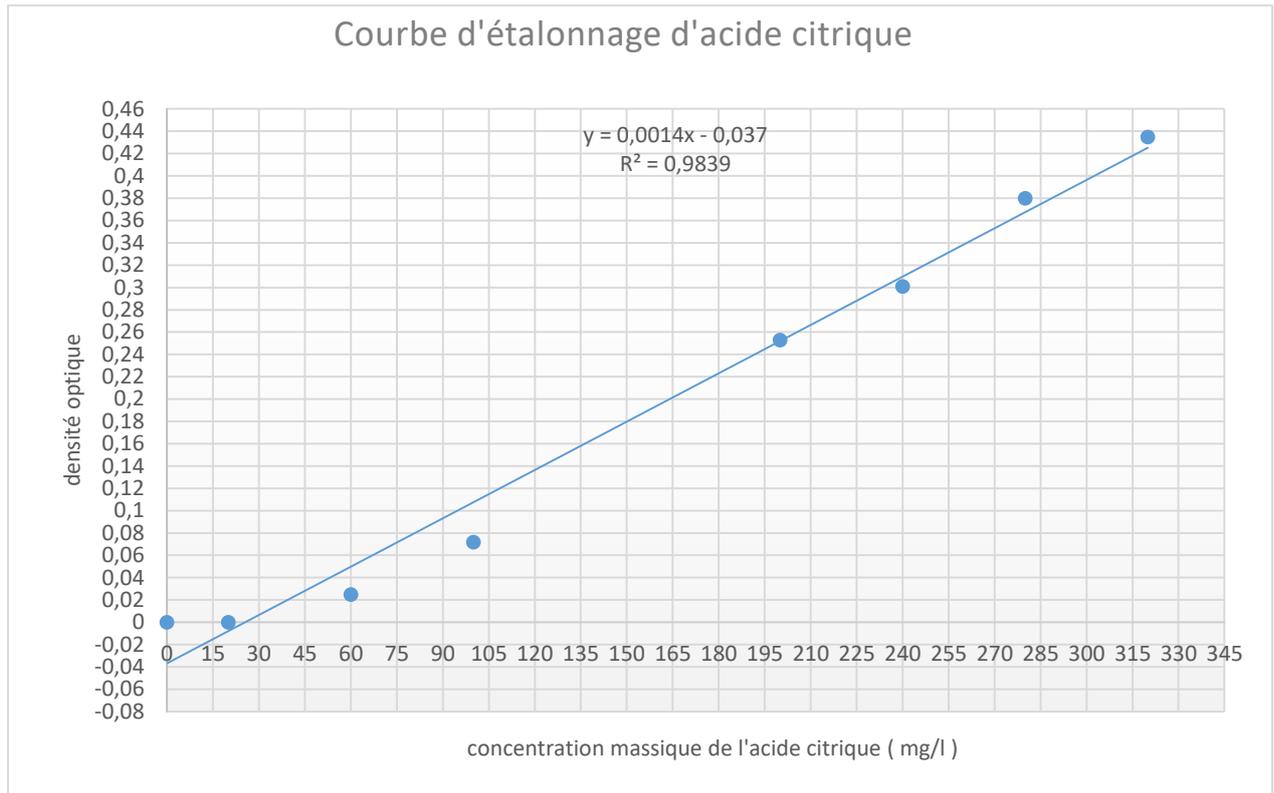


Figure 5: Courbe étalon utilisée pour le dosage de l'acide citrique

Chapitre IV

Résultats et discussions

IV.1 Analyses physico-chimiques de la mélasse

Nous avons effectué les analyses de brix, polarisation, pureté, pH, pour la mélasse, au niveau de laboratoire physico-chimique de la raffinerie 3500t/j de CEVITAL. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 2: Résultats relatifs aux analyses physico-chimiques de la mélasse.

analyses	Mélasse
Brix %	70,00
Polarisation %	49,62
Pureté %	61,92
pH	4,33
Matière minérale (% MS)	14,00
Densité	1,36419
Matières azotées totales (% MS)	6,00
Sucres totaux (% MS)	79,00
calcium (g/kg MS)	0,70
Phosphore (g/kg MS)	0,70
Potassium (g/kg MS)	40,00

D'après les résultats obtenus, on a constaté un pourcentage de matière sèche élevé de 70% avec une pureté de 61.92 % et un PH acide de 4.33 ; constitue un milieu riche en nutriments qui est très favorable pour la culture de l'aspergillus Niger et pour la production de l'acide citrique.

IV.2. Préparation de l'acide citrique à partir de la mélasse

Après avoir récupéré et analysé l'échantillon de mélasse de la canne à sucre, nous avons procédé à la préparation de l'acide citrique à partir de la mélasse. Pour cette étude, nous avons contrôlé les paramètres suivants :

L'évolution du pH, l'assimilation de la consommation des sucres et la production de l'acide citrique.

IV.2.1 Evolution du pH

Les valeurs du pH enregistrées au cours de la fermentation pour les trois échantillons montrent que l'échantillon 1 présente une acidité plus prononcée que le deuxième et le troisième échantillon (voir le tableau 5).

Pour l'échantillon 1, on remarque une légère diminution du **pH (de 3.5 à 2.94)** durant la première semaine de la fermentation et une chute plus importante pour atteindre une valeur de **1,89** à la fin de la fermentation (à la fin de la deuxième semaine de fermentation).

Pour l'échantillon 2, on remarque que le pH n'évolue que lentement ; il passe de **pH = 5** à **pH=4.79** durant la première semaine de fermentation et à **pH=4.66** pour la deuxième semaine de fermentation.

Pour l'échantillon 3, l'évolution du pH est très faible ; une légère augmentation constatée avec une présence d'odeur semblable à l'odeur d'un alcool.

La baisse du pH pour les deux échantillons 1 et 2 correspond à une étape caractérisée par un ralentissement de croissance du mycélium et à une augmentation de la synthèse de l'acide citrique [26].

Tableau 3: Les résultats relatifs à l'évolution du pH.

Temps de fermentation en jours	ECH 01	ECH 02	ECH 03
0	3,5	5	5
7	2,94	4,79	5,15
14	1,89	4,66	5,27

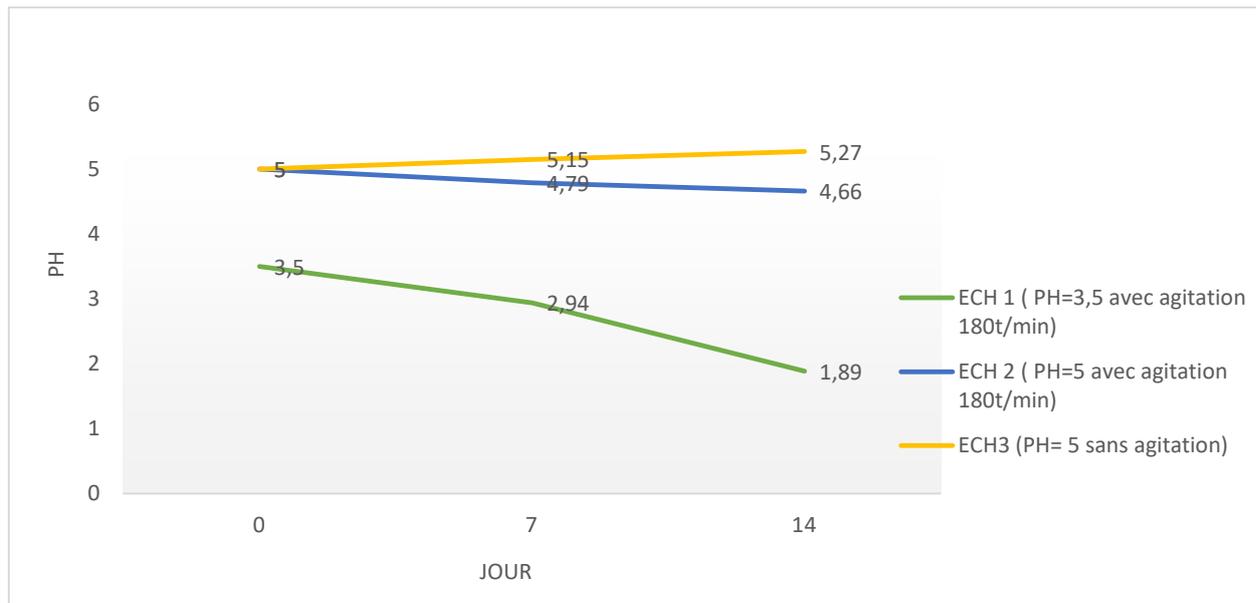


Figure 6: Evolution de pH des trois échantillons au cours de la fermentation.

IV.2.3 Evolution des sucres : consommation du sucre

La concentration en sucres dans les deux échantillons (1) et (2) diminue progressivement au cours de la fermentation. Cependant, cette diminution est plus rapide pour l'échantillon (2) que pour l'échantillon (1).

En effet, nous avons constaté que le champignon utilisé a consommé presque la totalité de la quantité initiale des sucres au cours de la première semaine de fermentation soit **95.1g/l** pour l'échantillon (1) et **126.6g/l** pour l'échantillon (2) avec des vitesses de consommation des sucres de **13.58g/l/j** et **18.08 g/l/j** pour les échantillons (1) et (2), respectivement. Une légère diminution de la consommation en sucre est observée pour la deuxième semaine de fermentation. (Figure 07)

Les taux des sucres résiduels à la fin de la fermentation sont égaux à **6.9 g/l** et **3.01 g/l** et **136.9 g/l** respectivement pour les échantillons (1) et (2) et (3) voir le tableau 03. Toutefois, La concentration en sucres pour l'échantillon (3), est pratiquement stable par conséquent la vitesse de consommation est nulle. (figure 07).

Cela montre clairement que l'agitation à un PH= 5 et PH= 3,5 a accéléré la consommation des sucres par l'aspergillus niger ; par contre l'échantillon 3 à PH= 3,5 qui n'a pas subi une agitation, ses sucres résiduels n'ont pas été vraiment consommés par les microorganismes.

Tableau 4: Evolution de l'assimilation et des vitesses d'assimilation des sucres au cours de la fermentation dans les deux milieux

Temps de fermentation en jours	Ech01 (pH=3,5 Avec agitation 180tr/m)		Echa02 (pH=5 Avec agitation 180tr/m)		Ech03 (pH=5 sans agitation)	
	Concentration en sucres résiduels (g/l)	Vitesse d'assimilation g/l/j	Concentration en sucres résiduels (g/l)	vitesse d'assimilation g/l/j	Concentration en sucres résiduels (g/l)	Vitesse d'assimilation g/l/j
0	140	0	140	0	140	0
7	44,9	13,58	13,4	18,08	138	0,28
14	6,9	5,42	3,01	1,48	136,9	0,15

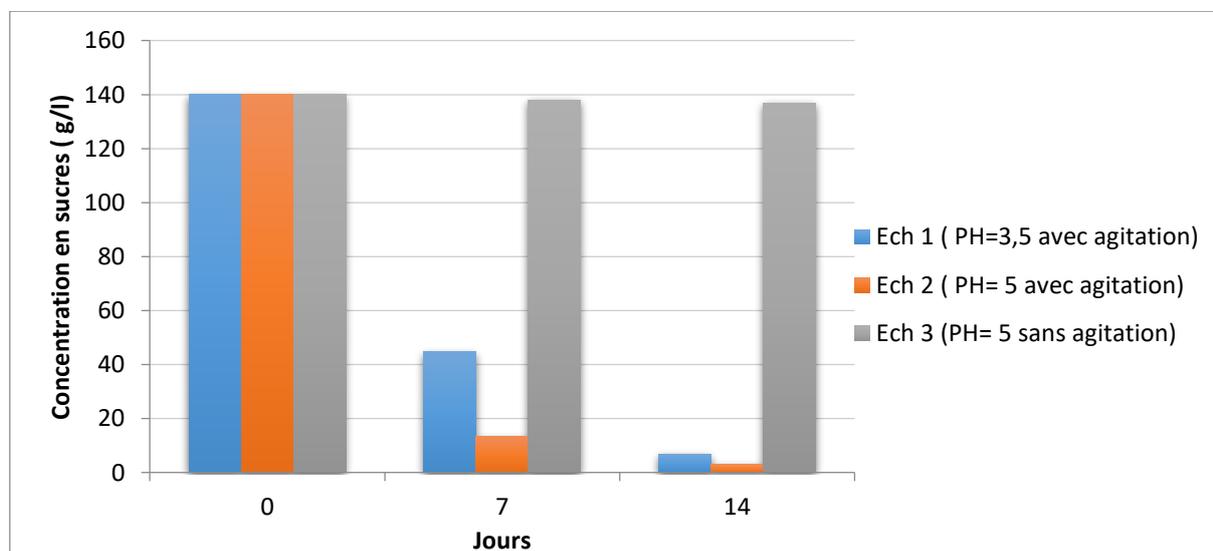


Figure 7 : Evolution de l'assimilation des sucres au cours de fermentation.

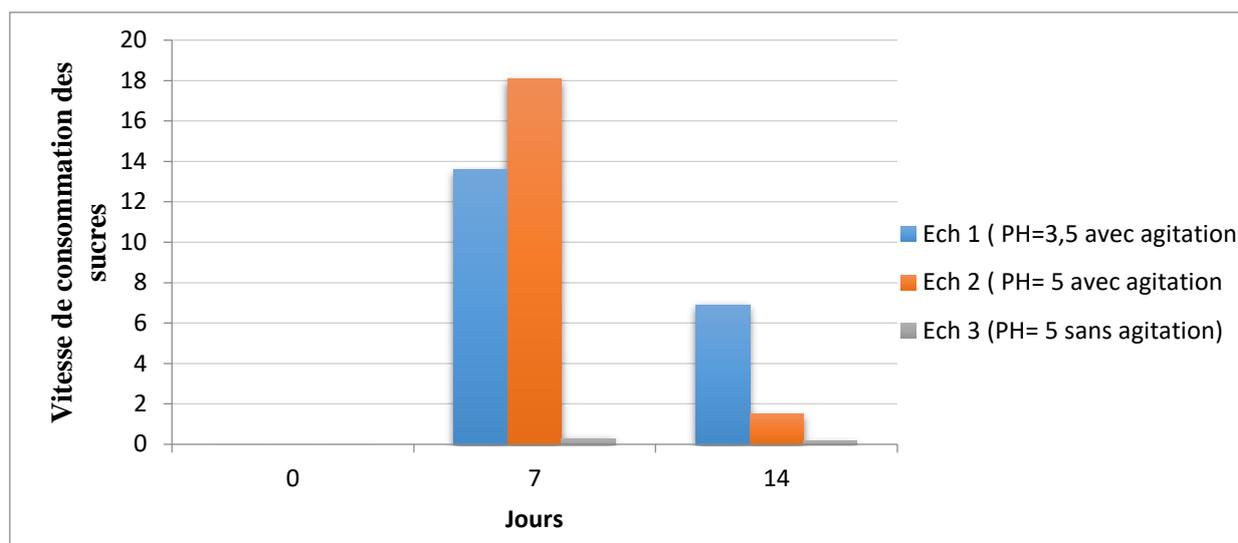


Figure 8: Evolution de la vitesse de consommation des sucres au cours de la fermentation.

IV.2.4 Evolution de la production de l'acide citrique

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté une faible production de l'acide citrique au cours de la première semaine de la fermentation pour les trois échantillons (1) et (2) et (3) de **2.42 g/l** et **1.02 g/l** et **0 g/l**, respectivement. Avec des vitesses de production correspondantes sont respectivement : 0.346 g/l/j et 0.146 g/l/j et 0g/l/j.

La concentration maximale en acide citrique est relevée au **14^{ème}** jour pour l'échantillon (1) avec **61.42g/l** et de **15.62 g/l** pour l'échantillon (2) avec des vitesses de production de 8.42 g/l/j et 2.09 g/l/j, respectivement.

Aucune production de l'acide citrique n'a été observée pour l'échantillon trois (3).

À partir de ces résultats, on remarque que les vitesses de production d'acide citrique varient d'une manière irrégulière au cours de la fermentation.

Les rendements en acide citrique : c'est-à-dire le rapport Quantité de l'acide citrique produit (g) / Quantité de sucre consommé (g) sont de 44% et 11% pour l'échantillon 1 et l'échantillon 2, respectivement.

Tableau 5: Evolution de la production et de la vitesse de production d'acide citrique au cours de la fermentation pour les trois échantillons.

	Ech01 (pH=3,5 avec agitation 180tr/m)		Ech02 (pH=5 avec agitation 180tr/m)		Echantillon 1 (pH=5 sans agitation)	
Temps de fermentation en jours	concentration de l'acide citrique g/l	vitesse de production g/l/j	concentration de l'acide citrique g/l	vitesse de production g/l/j	concentration de l'acide citrique g/l	vitesse de production g/l/j
0	-	-	-	-	-	-
7	2,42	0,346	1,02	0,146	0	0
14	61,42	8,42	15,62	2,09	0	0

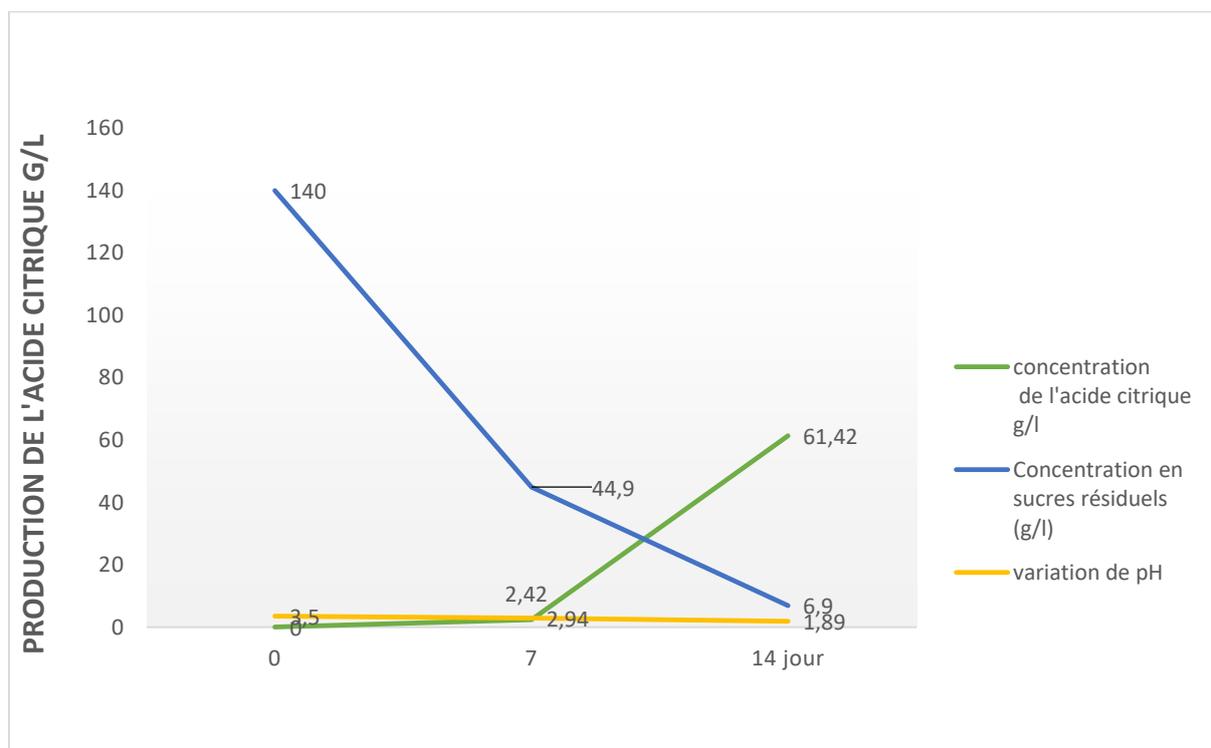


Figure 9: Evolution de la production de l'acide citrique au cours de la fermentation.

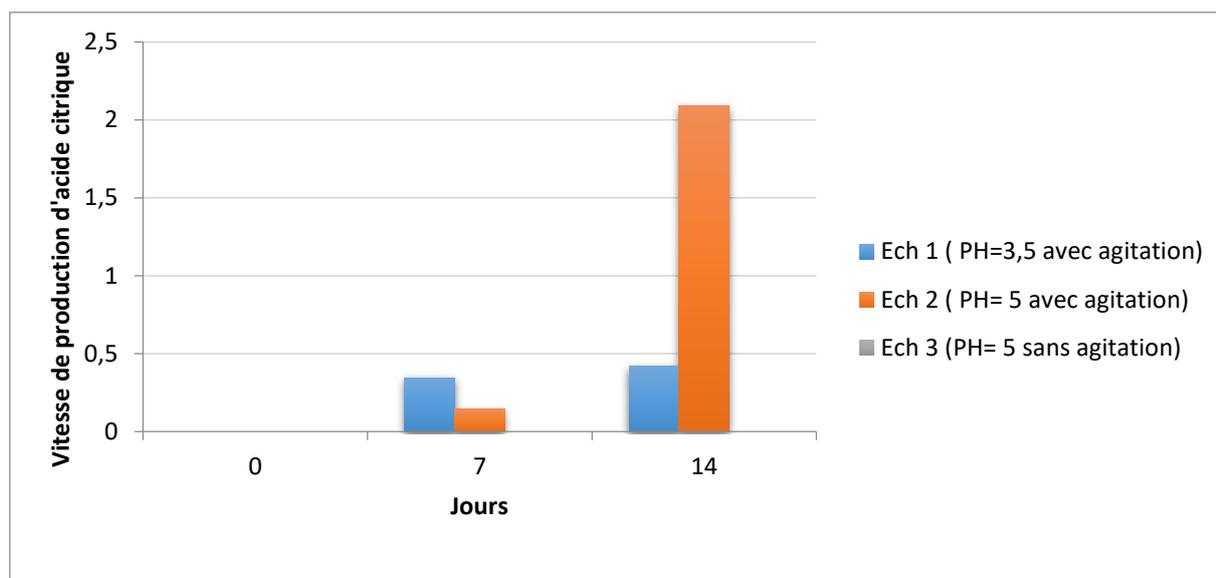


Figure 10: Evolution de la vitesse de production de l'acide citrique au cours de la fermentation.

La combinaison des trois paramètres (pH, Concentration de l'acide citrique produit, et concentration en sucre consommée) pour l'échantillon (1) nous donne une vision claire sur l'évolution du phénomène de production de l'acide citrique au cours de la fermentation.

Tableau 6: Variation des paramètres au cours de la fermentation pour l'échantillon (1).

Temps de fermentation en Jours	Concentration de l'acide citrique (g/l)	Concentration en sucres résiduels (g/l)	Variation du PH
0	0	140	3,5
7	2,42	44,9	2,94
14	61,42	6,9	1,89

IV. 3 Discussion des résultats

A la lumière des résultats obtenus, on peut tirer les conclusions suivantes :

La production d'acide citrique se déroule en deux grandes étapes consécutives :

- Une étape caractérisée par une forte consommation de sucres qui correspond à une importante croissance mycélienne durant laquelle la biosynthèse de l'acide citrique est faible.

- Une étape caractérisée par une augmentation de la synthèse de l'acide citrique avec une baisse conséquente du pH et qui correspond à un ralentissement de croissance du mycélium.

Les deux étapes sont plus marquées en (1) et (2). Nos observations sont en accord avec ceux de certains auteurs [23].

On peut dire que c'est l'échantillon (1) qui a donné des résultats plus intéressants et proches des résultats bibliographiques. La différence enregistrée dans les rendements pourrait être liée aux conditions d'expérimentation qui ne sont pas vraiment les mêmes.

Conclusion

Les résultats de la caractérisation physico-chimiques de la mélasse montrent que cette dernière est un milieu riche en sucres et peut donc constituer un milieu convenable à la culture du champignon du genre *Aspergillus Niger* qui permet la production d'acide citrique.

L'étude de la possibilité de produire de l'acide citrique pour trois milieux différents à savoir (pH=3,5 Avec agitation 180tr/m) ; (pH=5 Avec agitation 180tr/m) et (pH=5 sans agitation) sous une température de 32°C.

Les résultats obtenus ont montré que les conditions : pH=3,5 et une vitesse d'agitation de 180tr/min qui sont les plus favorable pour la production avec un rendement de 44%.

Ce résultat est très intéressant pour la valorisation de la mélasse qui est un sous-produit de faible valeur marchande. Toutefois, ce rendement peut être amélioré par :

- l'optimisation d'autres paramètres de production d'acide citrique,
- l'utilisation d'un matériel approprié (fermenteur) permettant de contrôler autant que possible les conditions de culture, agitation et aération en l'occurrence.

Enfin, nous pensons que ce travail, bien que préliminaire, ouvre des voies prometteuses pouvant contribuer à fournir localement du moins, un moyen de production d'acide citrique à partir d'un produit local de faible valeur marchande, produit et disponible au niveau de toutes les raffineries de sucre en Algérie, en particulier au niveau de CEVITAL.

Références bibliographiques

- [1] A. Ait Amar. Institut national des industries légères Boumerdes , 182p.
- [2] A. Courteau. La canne à sucre et l'environnement à la réunion,31p.2005.
- [3] AFISUC. Association pour la formation et le perfectionnement dans les industries sucrières. *Epuration*, (EAO) : 9–11,2002.
- [4] AGROVIN. Acide citrique acidifiant et anti oxydant de moûts et de vins. *Rev.AGROVIN*,10(1),2012.
- [5] A. Dilmi-Bouras. Les constituants alimentaires et leur rapport avec la santé. Office des Publications Universitaires, Alger,1998.
- [6] A. Dumbripatil, M. Adsul, S. Chaudhari, J. Khire,and D. Gokhale. Utilization of molasses sugar for lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Delbrueckii* mutant uc 3 in batch fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*,74:333–335,2008.
- [7] A. Jean, J. Potus, A. Poiffait, and P. Dauvillier. Introduction à l'analyse nutritionnelle des aliments. Lavoisier, Tec & Doc, Paris,1998.
- [8] A. M. Jimenez, R. Borja, and A. Martin. A comparative kinetic evaluation of the anaerobic digestion of untreated molasses and molasses previously fermented with *penicillium decumbens* in batch reactors. *Biochemical Engineering Journal*,18:121–132,2004.
- [9] A. Mersad, M. Declou, C. Fargues, and R. Lewandowsk. Les colorants en sucrerie : formation, masse molaire et rétention par filtration tangentielle. AssociationAVH,2 esymposium, page12,1999.
- [10] A. Meyer, J. Deiana, and A. Bernard. Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. DOIN éditeurs,France,2eédition,2004.
- [11] Applexion. Management de la qualité. Extension de l'unité de décoloration existante. Manuelopéra-toireCevital-Algerie.FORM002A.Cevital-Algerie,2006.
- [12] A. Touzi, Koceir, S. Mazouni, 'Mise au Point d'un Milieu de Culture à Base de Mélasse de Canne en Vue de la Production d'Acide Citrique par *Aspergillus niger*', *Technologies Avancées*, Vol 2; N°1, pp. 38-41, 1992.
- [13] A. Willay. L'essor de l'industrie sucrière à béthune au 19^{ème} siècle. Exposition "Et la betterave de vint sucrière". Journées du patrimoine,18-

19septembre,2010.

- [14] B. Cahagnier and D. Richard-Molard. Analyse microbiologique des grains et farines.1997.
- [15] B. Saddok et M. Faouzi, 'Essai de Production d'Acide Citrique par *Aspergillus niger* Cultivé sur Jus de Dattes', Mémoire d'Ingénieur, Génie Biologique, USTHB, Alger, 71 p., 1993.
- [16] C. Alvarez, E. González, P. Ramos, and M. Ballesteros. Valorization of sugar cane molasses: A review on process integration to obtain platform chemicals Processes, 8(4):463,2020.
- [17] C. Delarras. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse de contrôle sanitaire. Médicale international et TEC et DOC, Paris,2007.
- [18] D. Perlant and C.J. Sih. 'Fungal Synthesis of Citric, Fumaric, Isoaconic Acids', Improg. Ind. Microbiol, 2, 168 p., 1960.
- [19] C. R. Drysdale and A. M. McKay. Citric acid production by *Aspergillus niger* in surface culture on inulin. Letters in Applied Microbiology,20(4):252–254,1995.
- [20] D. Rafael, J. Thoumas, and S. Catherine. La fabrication de sucre Supplément technique INBP.2002.
- [21] E. Burzawa. Rappel des bases de l'épuration calco carbonique. In 6^{ème} Symposium de l'Association AVH, pages 4–10, Reims,1999.
- [22] E. Hugot. Handbook of Cane Sugar Engineering. Elsevier Science Publishing Company, New York, USA,1986.
- [23] E. Hugot. La sucrerie de canne : carbonatation. Lavoisier, Tec & Doc, 3^{ème} édition, 1987.
- [24] E. Moretti and F. Felippone. Acide citrique par fermentation. Press industria SpA, Biassono (MI)Italie,2000.
- [25] E. Schuster, N. Dunn-Coleman, J. C. Frisvad, and P. W.M. Van Dijck. On the safety of *Aspergillus niger*—a review. Applied Microbiology and Biotechnology,59:426–435,2002.
- [26] F. Zergat. Contribution à l'étude de la production d'acide citrique par *aspergillus niger* cultivée sur moût de dattes,1996.

- [27] H. Kiel, R. Guvrin, and Y. Henis. Citric acid fermentation by *Aspergillus niger* on low sugar concentrations and cotton waste. *Applied and Environmental Microbiology*,42(1):1–4,1981.
- [28] G. Campbell-Platt and P.P. Cook, *J. Appl. Bact. Symp., Supplément*, pp. 117-131, 1989.
- [29] J.-P.Larpent. *Biotechnologie des levures*. Masson,1991.
- [30] J. M. Park and Y. K. Oh. Recent advances in the valorization of molasses: A byproduct from sugar industry. *Bio resource technology*,281:449–457,2019.
- [31] J. Rivière, ‘*Applications Industrielles de la Microbiologie*’, Ed Masson et Cie, 203 p., 1975.
- [32] J. Romain, C. Thomas, S. Pierre, and B. Gérard. *Science des aliments*. Lavoisier Ed. Tec &Doc. 2007.
- [33] Jiménez-Martí, E., Aranda, A., Mendes-Ferreira, A., Mendes-Faia, A., and del Olmo, M. L. The nature of the nitrogen source added to nitrogen depleted vinifications conducted by a *Saccharomyces cerevisiae* strain in synthetic must affects gene expression and the levels of several volatile compounds., *Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* 92, 61–75. 2007.
- [34] K. Dussan and A. M. Engida. Molasses: A versatile feed stock for sustainable production of fuels and chemicals. *Industrial & Engineering Chemistry Research*,59(32):13990–14011,2020.
- [35] K. Helena, W. Rynowicz, Y. Linkoy et P. Linko, ‘*Utilisation de la Mélasse de Betterave à Sucres pour la Production d’Acide Citrique par Fermentation*’, *Sciences des Aliments*, 12 (3), Paris, pp. 383-392, 1992.
- [36] L. V. Curtin. Molasses-general considerations. In *Molasses in Animal Nutrition*, pages1–12. National Feed Ingredient Association, West Des Moines, IA,1983.
- [37] L. Porto de Souza Vandenberghe. Développement d’un Procédé pour la Production d’Acide Citrique par Fermentation en Milieu Solide à partir de Résidus de l’Agro-Industrie du Manioc. Doctoral dissertation, Compiègne,2000.
- [38] M. Asadi. *Beet-Sugar Handbook*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA, pp.45–62. 2007
- [39] M.Bernard, P. Chapoutot, M. Chatel et, M. Gueroult, M. Jubert, F. Morel d’Arleux, M. Taccard, M. Mariani, and M. Tierny. *Synthèse sur: la mélasse*. Comité des

sous-produits- RNED Bovins, page 19, Juillet 1991.

[40] M. Berovic and M. Legisa. Citric acid production. *Biotechnology Annual Review*, 13:303–343, 2007.

[41] M. Decloux. Procédés de transformation en sucrerie (partie 1). *Techniques de l'ingénieur, traité Agroalimentaire*, F6150 :18, 2002.

[42] M. Decloux. Procédés de transformation en sucrerie (partie 2). *Techniques de l'ingénieur, traité Agroalimentaire*, F6151 :16, 2003.

[43] M. Decloux, L. Tatoud, and A. Mersad. Rétention des impuretés de refonte de sucre roux de canne par filtration tangentielle. In 6^e Symposium de l'Association AVH, pages 58–63, Reims, 1999.

[44] M. Hamachi, B. B. Gupta, and R. Ben-Aim. Ultrafiltration: a means for decolorization of cane sugar solution. *Separation and Purification Technology*, pages 235–239, 2003.

[45] M. Mathlouthi and R. Barbara. L'extraction du sucre. CEDUS : Centre d'étude et de documentation du sucre, pages 1–11, 14, 2001.

[46] M. Mathlouthi and B. Rogé. Chapitre 9 sucreries de canne. Dossier CEDUS avec la collaboration de l'université de Reims, page 7, 2004.

[47] M.H. Novak. Valorisations non alimentaires des coproduits de la transformation de la Betterave sucrière. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux pour le compte de ValBiom, 2004.

[48] Maria Papagianni. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane et transport modeling. *Biotechnology advances*, 25(3):244–263, 2007.

[49] M. Pazouki and T. Panda. Understanding the morphology of fungi. *Bioprocess Engineering*, 22(2) :127–143, 2000.

[50] M. A. Theoleyre, S. Cartier, and M. Decloux. Couplage de la décoloration et de la nanofiltration de séluants de régénération en raffinerie de canne. Page 4, 1999.

[51] M. Vaubourdolle. *Infectiologie*. Le Moniteur Internat, Paris, 3^e édition, 2007.

[52] M. Seidali, F. P. Tchobo, N. C. Ayessou, T. Maoudoumyae, G. Ndoutamia, N. Akissioe, and J. Duosso. Evaluation de la qualité physicochimique des résidus du

complexe agro industriel de pandasarh (tchad). Larhyss Journal, n°25 :203–218,2016.

[53] N. Rachedi. Précèdes de transformation dans la raffinerie de cevital spa, Rapport de formation.2002.

[54] N. Stephenand M. Walford. Applications of ionchromatography in cane sugar research and process problems. Journal of Chromatography A,956:187–199,2002.

[55] Nagy E, Henics T, Eckert M, Miseta a, Lightowlers RN & Kellermayer M Identification of the NAD (+)-binding fold of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase as a novel RNA-binding domain. Biochem. Biophys. Res. Commun. 275: 253–260, 2000.

[56] P. L. Show, K. O. Oladele, Q. Y. Siew, F. A. Aziz Zakry, J. C. W. Lan, and T. C. Ling. Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*. Frontiers in Life Science,8(3):271–283,2015.

[57] S. O. Kareem, I. Akpan, and O. O. Alebiowu. Production of citric acid by *Aspergillus niger* using pineapple waste. Malaysian Journal of Microbiology,6(2):161–165,2010.

[58] S.Perez. Conformations du saccharose à l'état cristalline en solution. In M. Mathlouthi and P. Reiser, editors, Le Saccharose Propriétés et Applications, pages 11–34. Polytechnica, Paris,1995.

[59] V.S. Shankaranandand B. K. Lonsane. Coffee husk: Anin expensive substrate for production of citric acid by *Aspergillus niger* in a solid-state fermentation. World Journal of Microbiology and Biotechnology,10:165–168,1994.

[60] X.U. Ding Bang, C.P. Madrid, M. Rohr and C.P. Kubicek, 'The Influence of Type and Concentration of the Carbon Source in Production of Citric Acid by *Aspergillus niger*', Appl. Microbiol. Technol. 30, pp. 553-558, 1989.

RESUME

La mélasse de la canne à sucre issue de la raffinerie de sucre Cevital est un sous-produit riche en sucres qui constitue un milieu favorable pour la culture de la moisissure *Aspergillus Niger*. Cette dernière permet une production aisée de l'acide citrique.

Ce travail a été consacré à la l'étude de la valorisation de ce sous-produit (la mélasse) en vue de produire de l'acide citrique.

Les résultats obtenus ont montré que la fermentation de la mélasse et la production de l'acide citrique sont optimales dans les conditions opératoires suivantes : un pH acide d'environ 3,5 et une vitesse d'agitation de 180 tr/min. Un rendement de transformation de 44% a été obtenu pour un temps de contact de 14 jours.

MOTS CLES

Mélasse- *Aspergillus niger*- l'acide citrique

ABSTRACT

Sugar cane molasses from the Cevital sugar refinery is a by-product rich in sugars which constitutes a favorable environment for the cultivation of the *Aspergillus Niger* mold. The latter allows easy production of citric acid.

This work was devoted to the study of the valorization of this by-product (molasses) with a view to producing citric acid.

The results obtained showed that the fermentation of molasses and the production of citric acid are optimal under the following operating conditions: an acidic pH of approximately 3.5 and a stirring speed of 180 rpm. A transformation yield of 44% was obtained for a contact time of 14 days.

KEY WORDS

Molasses- *Aspergillus niger*- citric acid