

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

ZEROUALI Amine

HAMAMI Habib

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Biochimie Appliquée

THÈME

**Valorisation de la mélasse de canne à
sucre (raffinerie groupe Berrahel) pour
la production du bioéthanol**

Soutenue publiquement le 29/09/2019

DEVANT LE JURY

Président	M. NEBBACHE Salim	MCB	U. Mostaganem
Encadreur	M. BENBOUZIANE Bouasria	MCB	U. Mostaganem
Examinateur	M. CHAALEL Abdelmalek	MCA	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de biochimie de l'université - Site 3

Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail à:

*Ma famille qui a toujours été là pour moi et qui m'as
toujours encouragé.*

*A mes meilleurs amis sans exception ainsi que toute la
promotion de biologie.*

A tous les gens qui m'ont aidé.

J. Amine

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui nous ont aidés et encouragés

Tous ceux qui ont cru en nous et pour ceux qu'on porte envers eux notre sincère reconnaissance et gratitude

A mon père et ma mère qui m'ont soutenus tout le long de mon parcours universitaire et tout au long de ma vie

A tous mes amis ainsi qu'à toute la promotion de biochimie appliquée 2018-2019

je vous souhaite tout le bonheur du monde et bonne continuation dans votre vie personnelle et professionnelle

H. Habib

Remerciements

Notre modeste travail qui a été réalisé au sein du département de biologie, laboratoire de biochimie 1, n'aurait jamais vu le jour sans l'aide et la présence de nombreuses personnes qu'on voudrais remercier

On tiens à exprimer notre profonde gratitude à notre professeur et encadreur M.Benbouziane Bouasria pour sa présence et son suivi tout au long de notre travail

Toute notre profonde reconnaissance est exprimée pour tous les professeurs qu'on a eu tout le long de notre parcours universitaire et à tout le personnel administratif et technique du département de biologie ainsi qu'au personnel du laboratoire de la raffinerie Berrahel

On tiens aussi à exprimer notre profonde gratitude pour toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce projet

On tiens à remercier les membres du jurys pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail

Et à notre famille pour leur gentillesse et leur sympathie omniprésente

Merci à vous tous et que dieu vous protège et que votre vie soit pleine de réussite et de bonheur

Liste des figures

- Figure 1:** Image tridimensionnelle d'une molécule d'alcool éthylique
- Figure 2 :** Etapes de production de bioéthanol 1^{ère} génération
- Figure 3 :** Etapes de production de bioéthanol 2^{ème} génération
- Figure 4 :** Etapes de production de bioéthanol 3^{ème} génération
- Figure 5 :** Principe de la fermentation alcoolique du glucose par la levure
- Figure 6 :** Structure d'une cellule de levure *Saccharomyces cerevisiae*
- Figure 7 :** Schéma de la glycolyse et du cycle de Krebs (respiration)
- Figure 8 :** Schéma de la glycolyse (fermentation)
- Figure 9 :** Schéma d'une distillation classique
- Figure 10 :** Schéma du montage de la distillation fractionnée
- Figure 11 :** Courbe des masses volumiques (g/ml) de mélanges eau-alcool à 20 °C en fonction du titre en pourcentage volumique (% vol) à 20 °C
- Figure 12 :** Droite d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la quantité de sucre
- Figure 13 :** Valeur de la densité en fonction du temps Test N°02
- Figure 14 :** Valeur du degré Baumé en fonction du temps Test N°02
- Figure 15 :** Valeur de la densité en fonction du temps Test N°03
- Figure 16 :** Valeur du degré Baumé en fonction du temps Test N°03
- Figure 17 :** Valeur de la densité en fonction du temps Test N°04
- Figure 18 :** Valeur du degré Baumé en fonction du temps Test N°04

Liste des tableaux

Tableau 1 : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de mélasse.

Tableau 2 : Propriétés physiques de l'éthanol

Tableau 3 : Préparation des moûts pour le test N°01

Tableau 4 : Préparation des moûts pour le test N°02

Tableau 5 : Préparation des moûts pour le test N°03

Tableau 6 : Préparation des moûts pour le test N°04

Tableau 7 : Valeurs de l'absorbance selon la quantité de saccharose

Tableau 8 : Résultat de l'effet du non ajout de l'urée comme nutriment

Tableau 9 : Résultat de la quantité d'urée à ajouter au moût par rapport à la quantité de levure

Tableau 10 : Résultat de l'effet de la quantité de levure par rapport à la quantité de sucres

Tableau 11 : Résultat de l'effet de la concentration de sucres dans une fermentation alcoolique

Liste des Abréviations

- FA : Fermentation Alcoolique
- E85 : carburant alternatif composé à 85 % d'éthanol d'origine végétale (biocarburant) et de 15 % d'essence sans plomb
- GES : Gaz à Effet de Serre
- CO₂ : Dioxyde de carbone
- pH : Potentiel Hydrogène
- O₂ : Oxygène
- ATP : Adénosine-TriPhosphate
- D.O : Densité Optique
- q.s.p : Quantité Suffisante Pour
- HCl : Acide Chlorhydrique
- NaOH : Hydroxyde de sodium
- h : Heure
- Min : Minute
- Mlss : Mélasse
- Lv : Levure
- ED : Eau Distillée
- Ur : Urée
- T° : Température
- Vol : Volume
- Qte : Quantité
- Moy : Moyenne
- °Bé : Baumé
- Conc : Concentration

Table des matières

Dédicaces	2
Remerciements	4
Liste des figures	5
Liste des tableaux	6
Liste des abréviations	7
Table des matières	8
Introduction	10
Chapitre 1 Les énergies renouvelables : l'énergie biomasse	11
1. Introduction	12
2. L'énergie biomasse issue des matières organiques	12
3. Avantages et inconvénients de l'énergie biomasse	12
4. La mélasse comme biomasse	13
4.1. Définition de la biomasse	13
4.2. La mélasse	13
4.2.1. Composition de la mélasse	14
4.2.2. Utilisation	14
5. le bioéthanol comme énergie de la biomasse	15
5.1. Introduction	15
5.2. Définition du bioéthanol	15
5.3. Propriétés physico-chimiques	16
5.4. Utilisation	16
5.5. Générations de bioéthanol	17
5.5.1. Bioéthanol de 1ère génération	17
5.5.2. Bioéthanol de 2ème génération	18
5.5.3. Bioéthanol de 3ème génération	19
Chapitre 2 La production du bioéthanol	20
1. Le procédé de la fermentation alcoolique	21
1.1. Introduction	21
1.2. Définition de la fermentation alcoolique	21
1.3. Les différents procédés de la fermentation alcoolique	22
1.3.1. Le mode discontinu (batch)	22
1.3.2. Le mode semi-continu (fed-batch)	22
1.3.3. Le mode continu	23
1.4. Les paramètres de la fermentation alcoolique	23
1.4.1. Effet de la température	23
1.4.2. Effet du pH	23
1.4.3. Rôle de l'oxygène	24
1.4.4. La pression osmotique	24
2. Micro-organismes utilisés dans les fermentations alcooliques	24
2.1. Les bactéries	24
2.2. Les champignons / moisissures	25
2.3. Les levures	25
2.3.1. Généralités sur la levure boulangère (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	25
2.3.2. Morphologie et structure	26
2.3.3. Les besoins nutritionnels de la levure	27
2.3.4. Rôle des levures dans l'industrie alimentaire	28
2.3.5. Métabolisme	28
2.3.5.1. En aérobiose (respiration)	28
2.3.5.2. En anaérobiose (fermentation)	29

2.3.6. Influence des paramètres environnementaux sur le métabolisme de la levure	31
2.3.6.1. Influence du pH	31
2.3.6.2. Influence de la température	31
2.3.6.3. Influence de l'éthanol	31
2.3.6.4. Influence de l'oxygène	31
2.3.6.5. Influence du substrat	31
3. Le procédé de distillation	32
3.1. Définition	32
3.2. Principe	32
3.3. Les types de distillation	33
Chapitre 3 Matériels et méthodes	35
1. Introduction	36
2. Matériels et méthodes	36
2.1. Matériels végétales (Biomasse)	36
2.1.1. Dosages des sucres présents dans la mélasse	36
2.1.1.1. Dosages des sucres totaux	36
2.1.1.2. Dosage des sucres réducteurs et du saccharose	38
2.2. Matériels biologiques	41
2.3. Le procédé de fermentation	41
2.3.1. Préparation de l'inoculum	42
2.3.2. Préparation des moûts pour fermentations	43
2.3.2.1. Test N°01 : Absence de l'urée	43
2.3.2.2. Test N°02 : Test du taux de l'urée par rapport à la quantité de levure	43
2.3.2.3. Test N°03 : Test du taux de la levure par rapport à la quantité de sucre	44
2.3.2.4. Test N°04 : Test du taux de sucre dans le moût	44
2.4. Le procédé de distillation	45
2.4.1. Matériels et méthodes	45
2.4.2. Identification de l'éthanol	45
2.4.3. Calcul du taux d'éthanol	45
Chapitre 4 Résultats et discussions	46
1. Introduction	47
2. Composition chimique de la mélasse	47
2.1. pH	47
2.2. Brix	47
2.3. Le taux de sucres	47
2.3.1. Le taux de sucres totaux	47
2.3.2. Le taux de sucres réducteurs	48
2.3.3. Le taux de saccharose	49
3. Effet des différents paramètres étudiés sur la fermentation	50
3.1. Effet du non ajout de l'urée comme nutriment (Test N°01)	50
3.2. La quantité d'urée à ajouter au moût par rapport à la quantité de levure (Test N°02)	51
3.3. Effet de la quantité de levure par rapport à la quantité de sucres (Test N°03)	53
3.4. Effet de la concentration de sucres dans une fermentation alcoolique (Test N°04)	55
4. Identification et calcul du taux du bioéthanol obtenu	57
Conclusion générale	58
Références bibliographiques	59
Annexes	64
Résumé	67

Introduction

La demande mondiale en énergie ne fait qu'augmenter, mais elle est majoritairement dépendante des énergies fossiles qui présentent de plus en plus de problèmes liés à leur disponibilité et qui sont en diminution continue, vu la nature non renouvelable de ces énergies. D'une autre part, les énergies fossiles engendrent des problèmes liés à l'environnement, essentiellement l'émission de gaz à effet de serre (GES) notamment le dioxyde de carbone (CO₂). Ces gaz sont à l'origine du réchauffement climatique de la planète qui est devenu une préoccupation mondiale poussant à trouver d'autres alternatives.

Les énergies renouvelables (hydraulique, solaire, éolienne, géothermie et biomasse) se développent intensément partout dans le monde, portées par la nécessité de lutter contre le réchauffement climatique en réduisant les émissions de gaz à effet de serre.

Les biocarburants, parfois appelés agrocarburants, sont issus de la matière première végétales. Il existe de nombreux types de biocarburants, comme le Biodiesel, le Bioéthanol ou le Biométhanol. Le bioéthanol est le biocarburant le plus consommé dans le monde, 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 (Alazard-Toux et al., 2006).

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 BERRAHAL de Mostaganem, nous a poussé à mener cette étude afin de valoriser ce produit, qui présente un grand potentiel pour la production du bioéthanol en raison de sa teneur élevée en sucre. Ce produit est actuellement exploité à petite quantité pour l'alimentation du bétails.

Le présent travail consiste à réaliser des fermentations alcooliques de la mélasse à l'aide d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* (la levure boulangère) afin de produire du bioéthanol, en faisant varier plusieurs paramètres (la quantité optimal d'ajout de l'urée, de levure, 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.

L'objectif de cette étude est de valoriser les résidus agro-industriels en les transformant en produits de valeur, le travail est présenté selon le plan suivant : une première partie relative à une étude bibliographique qui englobe un aperçu sur l'énergie renouvelable et la biomasse, le procédé de fermentation alcoolique ainsi que les micro-organismes utilisés dans cette dernière. La seconde partie comprend le matériel et les méthodes d'analyse de la mélasse ainsi que les conduites pour la réalisation des fermentations alcooliques. Une troisième partie est consacrée aux traitements et discussions des résultats obtenus afin de les valoriser sur le plan scientifique et pratique.

Chapitre 1

Les énergies renouvelables : l'énergie biomasse

1. Introduction :

À l'origine de toutes les énergies renouvelables que l'humanité exploite aujourd'hui, il n'y a que deux grandes sources : le Soleil et la Terre. Toutefois, les spécialistes aiment à classer ces énergies en cinq grands types qui présentent chacun leurs spécificités.

Le terme énergie renouvelable est employé pour désigner des énergies qui, à l'échelle humaine au moins, sont inépuisables et disponibles en grande quantité. Ainsi il existe cinq grands types d'énergies renouvelables : l'énergie solaire, l'énergie éolienne, l'énergie hydraulique, la biomasse et la géothermie. Leur caractéristique commune est de ne pas produire, en phase d'exploitation, d'émissions polluantes (ou peu), et ainsi d'aider à lutter contre l'effet de serre et le réchauffement climatique (Futura-sciences, 2019).

2. L'énergie biomasse issue des matières organiques :

La biomasse peut devenir une source de chaleur, d'électricité ou de carburant. Plusieurs techniques peuvent être mises en œuvre pour en tirer son énergie, thermo-chimiquement comme : la combustion, la gazéification, la pyrolyse ou encore la méthanisation par exemple, ou biochimiquement comme la fermentation.

Dans la production de L'énergie biomasse, il faut veiller, dans certains cas, à ce qu'elle n'entre pas en concurrence avec la chaîne alimentaire. L'énergie biomasse comprend : La source ancestrale qu'est le bois, il peut produire de la chaleur, de l'électricité ou des biocarburants (hydrolyse de la cellulose en glucose puis fermentation en bioéthanol). Les biocarburants, comme le bioéthanol, issus de la fermentation alcoolique des végétaux comme la canne à sucre, la betterave ou leur mélasse (1^{ère} génération), de matières cellulosiques (2^{ème} génération) ou de micro-organismes comme les microalgues (3^{ème} génération). Il est à noter que la biomasse ne peut être considérée comme une source d'énergie renouvelable que si sa régénération est supérieure à sa consommation (Futura-sciences , 2019).

3. Avantages et inconvénients de l'énergie biomasse :

Les avantages de l'énergie biomasse sont nombreux. Au niveau global, la biomasse, qui aide à la gestion des déchets solides, peut réduire la dépendance du pays au pétrole ou au gaz en étant transformée en différentes sources d'énergie. Pour les particuliers, un atout principal : sa rentabilité. Elle est également disponible partout et renouvelable à l'infini à condition d'être

utilisée de façon raisonnable. En Europe, le bois énergie compte en effet parmi les ressources les moins chères et les plus abondantes.

Miser sur l'énergie biomasse, c'est aussi participer à la lutte contre les émissions de gaz à effet de serre, dans la mesure où le CO₂ rejeté dans l'atmosphère par la combustion des bioénergies correspond en théorie à la quantité de CO₂ absorbée par les végétaux lors de leur croissance.

Le principal inconvénient de la biomasse est le rendement énergétique qui au final, est relativement limité. Un recours intensif à ce genre d'énergie entraînerait des impacts négatifs sur l'environnement, tels que des phénomènes de déforestation, d'érosion ou encore de pollution des sols. C'est notamment la production de biocarburant qui inquiète certains experts, car elle nécessite une surface de terre cultivable considérable pour un rendement plutôt faible (Adeline, 2018).

4. La mélasse comme biomasse :

4.1. Définition de la biomasse :

Dans le domaine de l'énergie, la biomasse est la matière organique d'origine végétale (microalgues incluses), animale, bactérienne ou fongique (champignons), utilisable comme source d'énergie. L'énergie peut être extraite par combustion directe (ex : bois énergie), ou par combustion après un processus de transformation de la matière première, par exemple la méthanisation ou d'autres transformations chimiques dont la pyrolyse, la carbonisation hydrothermale, et des méthodes de production de biocarburants ou agrocaburants. On parle alors de bioénergie (IEA et FAO, s.d.).

4.2. La mélasse :

La mélasse (du latin mellaces signifiant miel, ou du grec ancien μέλας melas signifiant noir) est une mixture résultant du raffinage du sucre extrait de la betterave sucrière ou de la canne à sucre après refonte, épuration, décoloration, concentration et cristallisation du sirop.

Valorisée comme édulcorant ou dans l'alimentation animale et humaine, la mélasse est essentiellement destinée à produire de l'alcool éthylique après fermentation alcoolique. Ce bioéthanol est essentiellement utilisé par l'industrie agroalimentaire (pour la production de spiritueux notamment), la parfumerie et la pharmacie galénique (comme solvant) ainsi qu'en biocarburant (Patel et *al.*, 2003).

4.2.1. 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 (calcium, potassium, fer, cuivre...), ce qui n'est pas le cas du sucre blanc cristallisé.

Tableau 1 : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de mélasse (USDA , 2018)

Apport énergétique		Minéraux et oligo-éléments	
Calories	290 kcal	Calcium	205 mg
Joules	1213 kJ	Fer	4.72 mg
Principaux composants		Magnésium	242 mg
Sucres totaux	74.73 g	Phosphore	31 mg
Amidon	0.01 g	Potassium	1464 mg
Fibres alimentaires	0 g	Sodium	37 mg
Protéines	0 g	Vitamines	
Lipides	0.1 g	Vitamine B3 (ou PP)	0.930 mg
Eau	21.87 g	Vitamine B6	0.670 mg

4.2.2. Utilisations :

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) et 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, comme le brasem belge.

Elle peut aussi nourrir des levures ou bactéries dans des fermenteurs, ou :

- 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 E161j) 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* GS3 en culture dans un substrat enrichi en mélasse produit des biosurfactants (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* ; souche E. 82005) élevées dans un fermenteur à 38°C (Tanishoa et al, 1994).

5. le bioéthanol comme énergie de la biomasse :

5.1. Introduction :

Ces dernières années, principalement en réponse aux instabilités d'approvisionnement en carburants et aux efforts de réduction des émissions de CO₂, le bioéthanol (comme le biodiesel) est devenu aujourd'hui un des carburants les plus prometteurs et est considéré comme l'unique alternative, à court et moyen terme, aux carburants fossiles dans le monde.

Le bioéthanol est reconnu comme une alternative valable car les cultures sources peuvent être cultivées de manière durable sous presque tous les climats du monde. De plus, l'usage du bioéthanol contribue à réduire les émissions de CO₂. En effet, les émissions sont stoppées puisque durant la phase de croissance des cultures, le CO₂ est absorbé par la plante et l'oxygène est relâché dans les mêmes volumes que le CO₂ produit durant la combustion du carburant. Cela crée un large avantage sur les carburants fossiles qui émettent du CO₂ ainsi que d'autres éléments polluants. Dans les années 70, le Brésil et les USA initièrent une production massive de Bioéthanol produit respectivement à partir de canne à sucre et de maïs. Des productions à petite échelle ont vu le jour plus récemment en Espagne, France, Suède principalement à partir de blé et de betterave sucrière (EUBA , s.d.).

5.2. Définition du bioéthanol :

Le bioéthanol, l'éthanol ou encore l'alcool éthylique sont toutes les trois des appellations qui désignent la même molécule qui est composée de deux atomes de carbone (C), six atomes d'hydrogène (H) et d'un atome d'oxygène (O). Les formules brutes et semi-développées de la molécule d'éthanol sont respectivement le C₂H₆O, le C₂H₅OH et le CH₃-CH₂-OH (Mousli , 2017).

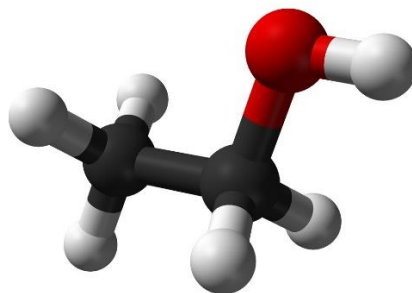


Figure 1: Image tridimensionnelle d'une molécule d'alcool éthylique (Public, 2017)

L'éthanol peut être produit industriellement grâce à la pétrochimie en utilisant l'hydratation par catalyse acide de l'éthylène ou soit biochimiquement suite au traitement par

fermentation de la biomasse : plantes sucrières, comme la betterave et la canne à sucre, ou de céréales, comme le maïs et le blé (Mousli, 2017).

Le bioéthanol, une sorte d'énergie de biomasse, carburant de rechange pour l'essence, est une ressource renouvelable considérée comme une alternative aux combustibles fossiles qui s'épuisent. La production traditionnelle de bioéthanol provient principalement du sucre. Cependant, cela entraîne une concurrence entre les sources d'énergie alimentaire et la biomasse, par conséquent, les matériaux lignocellulosique sont progressivement considérés comme des ressources renouvelables plus attrayantes pour la production d'éthanol en raison de leur disponibilité et de leur coût relativement faible (Bayrakci et al., 2014).

5.3. Propriétés physico-chimiques :

L'éthanol 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. 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 2 : Propriétés physiques de l'éthanol (Mousli, 2017)

Masse molaire	Point de fusion	Point d'ébullition	Densité	Densité de vapeur
46,7 g/mol	-114 °C	78.5 °C	0.789	1.59

C'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).

5.4. Utilisations :

- 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 l'ETBE (éthyl-tert-butyl-éther).

- 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 fin 2007, se généralise dans les stations-service (E85).
- Désinfectant, biocide.
- Piles à combustibles.
- Composant de boissons alcoolisées (Bounoua, 2017).

5.5. Génération de bioéthanol :

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

5.5.1. Bioéthanol de 1^{ère} génération :

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

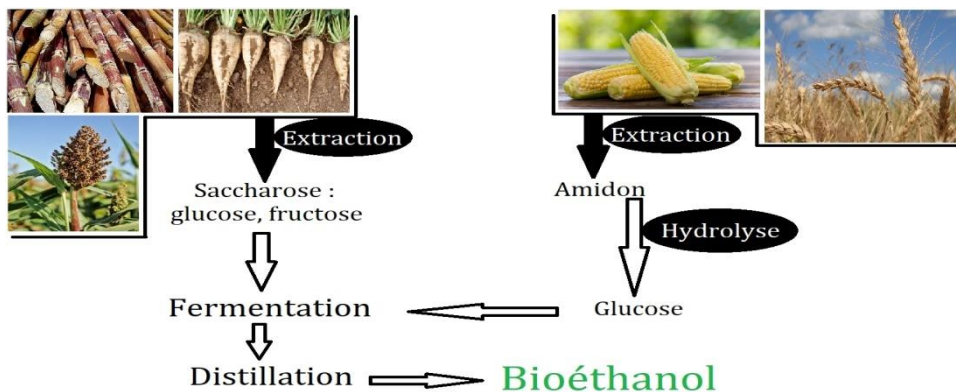


Figure 2 : Etapes de production de bioéthanol 1^{ère} génération

Les récoltes de sucre comme la canne à sucre, le sorgho sucrier ou la betterave à sucre se composent principalement du glucose, du fructose et du saccharose comme composants principaux (Bai et al, 2008). Ces sucres fermentescibles sont extraits par broyage ou concassage puis fermentation en éthanol, ils peuvent provenir aussi de l'amidon contenu dans les produits

céréaliers après hydrolyse. En outre, l'éthanol est séparé du flux de produits par distillation puis déshydratation.

La rentabilité de la production d'éthanol à partir de matières premières alimentaires et les impacts sur les changements dans l'utilisation des terres a été critiquée (Rathmann et al, 2010). De tels inconvénients du bioéthanol de première génération ont donné lieu à la nécessité d'une production d'éthanol à partir de matières premières non alimentaires telles que la biomasse cellulosique (Devarapalli et al, 2015).

5.5.2. Bioéthanol de 2^{ème} génération :

Le bioéthanol de deuxième génération, également appelé «biocarburant avancé», est produit par des matières premières lignocellulosique et des résidus de forêts agricoles. Les avantages de ces matières premières sont la facilité de disponibilité, mais contrairement à la production d'éthanol de première génération, le processus de conversion de ces matières celluloses en éthanol est complexe. La biomasse cellulosique est d'abord prétraitée chimiquement ou enzymatiquement pour décomposer les unités polymères et augmenter l'accessibilité des sucres pour la fermentation microbienne afin de produire de l'éthanol. D'autres problèmes principaux liés à la production de bioéthanol de deuxième génération sont l'exigence de technologies et d'installations de pointe (Akbi, 2013).

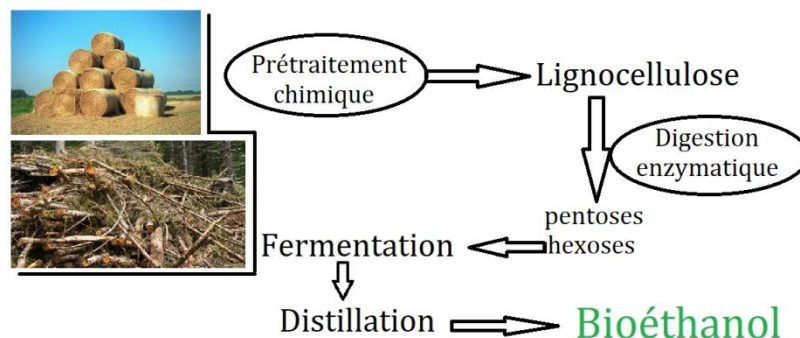


Figure 3 : Etapes de production de bioéthanol 2^{ème} génération

Le bioéthanol de deuxième génération à partir de matières premières celluloses a été démontré avec succès dans une usine à échelle pilote (Bounoua, 2017). De plus, même une usine d'éthanol cellulosique de 30 millions de gallons (135 millions de litres) par an de DuPont a commencé sa production en 2015 (Dinhill, 2017).

5.5.3. Bioéthanol de 3^{ème} génération :

La biomasse des algues peut être utilisée pour produire une variété de biocarburants tels que l'hydrogène, le diesel, l'isobutène et l'éthanol.

Plusieurs études ont rapporté la production de bioéthanol à partir de la biomasse micro et macro algique (John et al., 2011). La cellulose sont extraits de la biomasse d'algues en utilisant un cisaillement mécanique ou par hydrolyse enzymatique, après quoi ils sont utilisés pour la production de bioéthanol (John et al., 2011). L'hydrolyse enzymatique de la cellulose provenant des algues est plus simple que celle de la biomasse végétale due à une présence négligeable ou nulle de lignine dans les algues. On a signalé que diverses espèces d'algues contiennent différentes quantités d'amidon et de biomasse après extraction de l'huile (John et al., 2011). La production d'éthanol à partir d'amidon et de cellulose d'algues est similaire aux processus de conversion des sucres en éthanol.

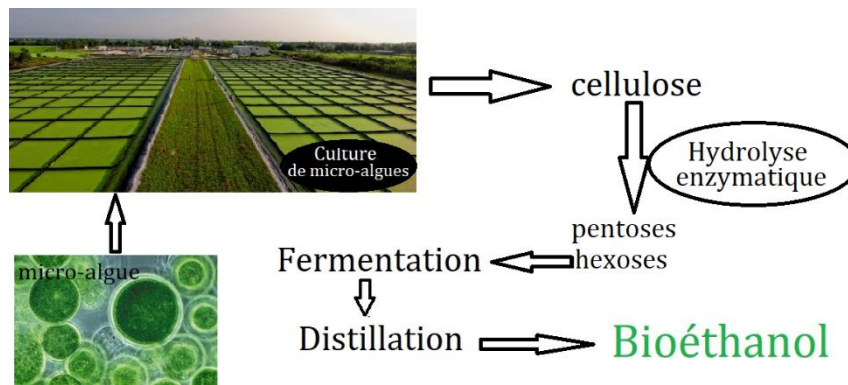


Figure 4 : Etapes de production de bioéthanol 3^{ème} génération

Les algues peuvent se développer sur des terres non cultivables sans modifier l'utilisation des terres. En outre, le CO₂ produit dans les gaz de combustion industriels peut être utilisé pour produire de la biomasse d'algues (Brennan et al., 2010). Un autre avantage principal de la biomasse algale est qu'il ne nécessite pas d'eau douce pour la culture. Les eaux usées industrielles et domestiques peuvent également être utilisées pour la culture de la biomasse algale (Mussatto et al., 2010).

Le principal obstacle à la commercialisation des biocarburants d'algues est le coût des procédés.

Chapitre 2

La production du bioéthanol

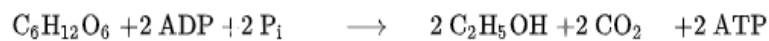
1. Le procédé de la fermentation alcoolique :

1.1. Introduction :

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

1.2. Définition de la fermentation alcoolique (FA) :

La FA consiste en une biotransformation des jus de fruits ou toute solution sucrée 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 :



Les fermentations sont des procédés multiphasiques. Ceci pose des contraintes biologiques et physico-chimiques. Les cellules vivantes constituent un système organisé avec des entrées de substrats, d'oxygène, de facteurs de croissance et des sorties de déchets comme le CO₂ et l'éthanol. La partie active de la matière vivante, que constituent les protéines, nécessite un environnement adéquat du point de vue du pH, de la température. Ceci permet le développement, la maintenance et la reproduction des cellules dans de bonnes conditions (Riess, 2012).

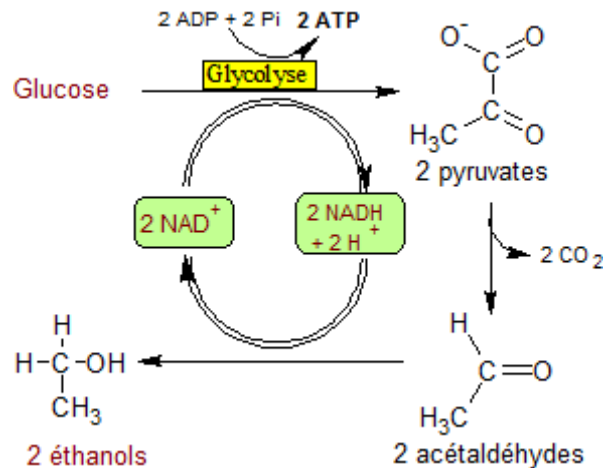


Figure 5 : Principe de la fermentation alcoolique du glucose par la levure (Pancrat, 2013)

1.3. Les différents procédés de la fermentation alcoolique :

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

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

Peu de moyens sont ainsi nécessaires à sa mise en œuvre, ce qui en fait son attrait du point de vue industriel (Grisales Palacio , 2007). Il souffre cependant d'un inconvénient majeur : l'apport initial d'une quantité élevée de substrat inhibe généralement la croissance des microorganismes qui le consomment, ce qui se traduit par des durées de traitement allongées, et limite la charge initiale admissible (Queinneq , 2000).

1.3.2. Le mode semi-continu (fed-batch) :

Tout en nécessitant un dispositif de stockage des affluents, 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.

Ce mode 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.

A partir d'un volume initial préalablementensemencé, le réacteur est alimenté par un débit augmentant de façon exponentielle, nécessitant un contrôle en boucle fermée. C'est d'ailleurs ce dernier point qui a fortement limité l'utilisation du fed-batch en milieu industriel (Queinnec, 2000).

1.3.3. Le mode continu :

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

1.4. Les paramètres de la fermentation alcoolique :

1.4.1. Effet de la température :

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

1.4.2. Effet du pH :

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).

1.4.3. Rôle de l'oxygène :

Il est important pour la synthèse des acides gras insaturés et des stérols qui protègent les levures du stress alcoolique, chez les *Saccharomyces cerevisiae* l'O₂ est indispensable pour assurer la survie des levures, même en présence de concentration élevée en éthanol. Son apport doit être continu tout au long de la culture.

1.4.4. La pression osmotique :

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

2. Micro-organismes utilisés dans les fermentations alcooliques:

Une grande variété de micro-organismes produit de l'éthanol à partir de polysaccharides. Cependant, peu sont réellement compétitifs en termes :

- De rendement en éthanol par rapport au substrat consommé.
- De capacité fermentaire.
- De tolérance à l'éthanol élevée.
- D'adaptation aux conditions de fermentation.

2.1. Les bactéries :

Les bactéries sont des procaryotes, organismes monocellulaires dont la paroi donne la forme et la rigidité. L'appareil nucléaire libre dans la cellule ne comporte qu'un seul chromosome. Le cytoplasme contient les ribosomes, sites de la synthèse protéique. La cellule peut être munie d'un flagelle lui conférant sa mobilité. Leur taille est comprise entre 0.5 et quelques micromètres (Bauer et al., 2010).

Des bactéries de types Gram négatif sont utilisées dans la production de vinaigre (*Gluconobacter* ; *Acetobacter*), de gommes (*Xanthomonase*). La préparation du yaourt, du fromage, légumes et viandes fermentés fait appel à des bactéries de types Gram positif (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, etc.) (Bauer et al., 2010).

Les bactéries capables de réaliser la fermentation alcooliques sont peu nombreuses. Les plus utilisées sont *Zymomonas mobilis* (Haichour, 2017) et *Bacillus subtilis* (Diego et al, 2007).

2.2. Les Champignons / moisissures :

Les champignons (fungi) font partie de la classe des eucaryotes. Ce sont des hétérotrophes saprophytes ou parasites qui peuvent être mono ou pluricellulaires et dont les cellules contiennent souvent plusieurs noyaux. Les moisissures peuvent être considérées généralement comme des contaminants indésirables. Bien que non pathogènes, elles peuvent produire des mycotoxines. Dans certains cas elles se montrent utiles, telles différentes sous-espèces de *Penicillium* et *Aspargillus* dans la fabrication de fromages et dans les fermentation alcoolique (Bauer et al., 2010).

2.3. Les levures :

Une levure est un champignon unicellulaire apte à provoquer la fermentation des matières organiques animales ou végétales. Les levures sont employées pour la fabrication du vin, de la bière, des alcools industriels, des pâtes levées et des antibiotiques (Brandberg et al, 2007).

La dénomination « levure » découle de l'observation des fermentations et tout particulièrement celle qui a lieu durant la fabrication du pain : on dit communément et depuis longtemps que le pain lève. Ce n'est pas, à proprement parler, une dénomination scientifique actuelle. Mais l'importance des levures dans le domaine des fermentations conduit à conserver ce terme générique qui continue à être correctement perçu (LLUCS, s.d.).

Ces sont les microorganismes les mieux adaptés à la production d'éthanol à partir de sucres fermentescibles tel le genre *Saccharomyces cerevisiae* (Brandberg et al, 2007) et *Kluyveromyces marxianus* (Limtong et al, 2007).

2.3.1. Généralités sur la levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*) :

C'est un micro-organisme, une levure particulière parmi tous les ferments, levains, levures, etc. utilisés depuis la haute Antiquité : les Égyptiens, les Babyloniens, mais également les Celtes qui l'utilisaient pour la fabrication de boissons fermentées, du pain, du kéfir, du vin et de la bière de fermentation haute. Elle a été découverte, isolée et identifiée au milieu du XIX^e siècle par des brasseurs hollandais à la demande de la

corporation des boulangers parisiens qui commençaient à industrialiser leur production et cherchaient, pour faire leur pain, un procédé de fermentation plus fiable et plus rapide que leur levain traditionnel. Ainsi, dans ces domaines, certains mélanges de ses différentes souches sont appelées « levure de boulanger » et « levure de bière ».

2.3.2. Morphologie et structure :

Les levures sont des eucaryotes unicellulaires, ayant une forme sphérique ou ovale, largement étudiées en biologie cellulaire et moléculaire. Leur état physiologique et leur morphologie peuvent varier selon les conditions de l'environnement. Lorsqu'elles se trouvent dans des conditions favorables de culture (température, aération, pH, etc.) elles peuvent se diviser activement par bourgeonnement (Boze *et al.*, 2008). Elles peuvent présenter deux modes de reproduction: végétative et sexuée. La taille d'une levure peut varier entre 1 et 9 μm en longueur et de 1 à 5 μm en largeur. Certaines cellules sont cylindriques et de grandes tailles jusqu' à 20 μm de longueur ou plus (Larpent, 1991).

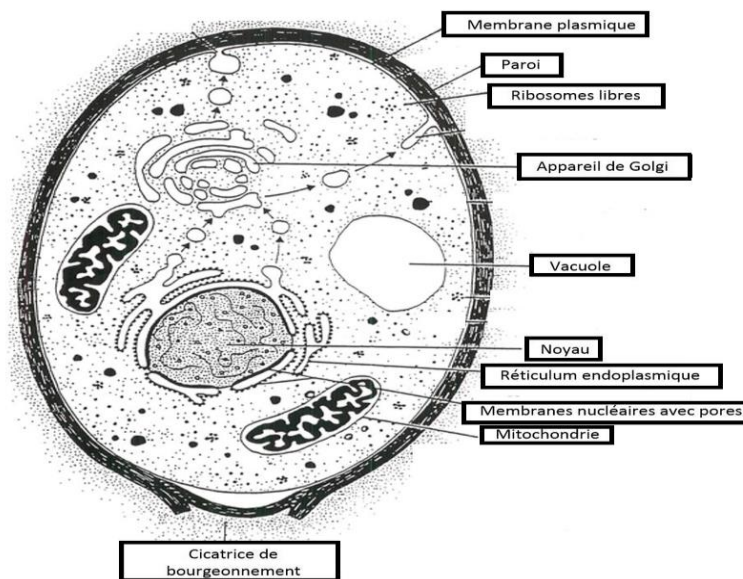


Figure 6 : Structure d'une cellule de levure *Saccharomyces cerevisiae* (Sylvie, 2018)

2.3.3. Les besoins nutritionnels de la levure :

Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires à la croissance et aux besoins énergétiques de la levure. Ce dernier est composé principalement d'eau et des éléments suivants : carbone, hydrogène, oxygène, azote ; le milieu doit donc fournir ces éléments pour permettre la croissance.

Les principaux besoins des levures sont les suivants :

- Une source de carbone : Le carbone représente environ 50% du poids sec de la levure. Les glucides simples (monosaccharides, disaccharides et trisaccharides) sont fermentescibles par les levures (Leveau et *al*, 1993).
- De l'oxygène (ou des lipides en anaérobiose) nécessaire à la synthèse de stérols, En anaérobiose stricte, le milieu doit être complété avec des stérols et des acides gras insaturés, qui entrent dans la composition de la membrane et ne peuvent être synthétisés par la levure qu'en présence d'une source d'atome d'oxygène (Käppeli et *al*, 1986).
- Une source d'azote : Les levures contiennent 10% environ d'azote, entrant dans la composition des acides aminés, des acides nucléiques et de certaines vitamines, mais ce n'est pas suffisant, c'est pourquoi Il doit être apporté par le milieu de culture sous la forme de sels d'ammonium ou d'urée(Leveau et *al*, 1993). L'ajout d'une source d'azote doit se faire à un dosage optimal, car, en cas de carence, il peut y avoir une multiplication insuffisante des levures pour achever la FA, une production de protéines membranaires insuffisante pour une intégration correcte des sucres dans la levure (Pillet, 2015), et en cas d'excès, il peut y avoir plus de carbamate d'éthyle (cancérogène pour l'Homme), production d'acidité volatile (Patricia, 2011).
- Des vitamines : Ce sont des régulateurs et des cofacteurs importants des voies métaboliques. Elles agissent généralement comme co-enzymes ou précurseurs d'enzymes. *Saccharomyces cerevisiae* est auxotrophe pour les vitamines suivantes qui seront ajoutées au milieu de culture : acide pantothénique, acide nicotinique, pyridoxine, myo-inositol, thiamine et biotine (Rose, 1980).

- Des oligo-éléments (ions inorganiques): Les oligo-éléments sont nécessaires à une croissance et une fermentation optimale. Il est possible de distinguer les macro-éléments: K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, Cl⁻ dont la concentration nécessaire varie entre 0,1 et 1 mM et les microéléments : Co²⁺, B²⁺, Cd²⁺, Cr⁺, Cu²⁺, I⁻, Mo⁺, Ni⁺ pour lesquels une concentration de 0,1 à 100 µM est suffisante (Russell, 2003).

2.3.4. Rôle des levures dans l'industrie alimentaire:

Les levures occupent une place essentielle dans l'industrie alimentaire. Elle participent à la fabrication de nombreux produits (brasserie, fromagerie, vinification...etc.), mais aussi à la valorisation des déchets agricoles et industriels et à la production des protéines. Actuellement leur rôle est fondamentale dans les industries de fermentation: les levures utilisent les substrats sucrés ou amylacés pour la production de certains métabolites comme: l'alcool (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces*); les nucléotides, ainsi pour la production des antibiotiques. Les levures ayant une grande valeur nutritive peuvent entrer dans la ration alimentaire animale ou humaine. Dans ce but, la production de «levure aliment» ou P.O.U (protéines d'organismes unicellulaires) s'effectue sur des substrats très variés (Scriban, 1999).

2.3.5. Métabolisme :

La *Saccharomyces cerevisiae* est capable de suivre deux voies métaboliques : la voie aérobie et la voie anaérobie. Cela lui permet de vivre dans des environnements divers. Pour la voie aérobie, la levure se sert de la respiration pour métaboliser les glucides en dioxyde de carbone et en eau. Pour la voie anaérobie, elle fermente les glucides et produit de l'éthanol et du CO₂ (Ngutyen Thanh, 2016).

2.3.5.1. En aérobiose (respiration) :

Lorsque la levure se trouve en présence d'air, elle produit à partir du sucre et de l'oxygène du gaz carbonique, de l'eau et une grande quantité d'énergie. C'est le processus métabolique de la respiration. Dans ces conditions, l'oxydation du glucose est complète (Guinet et al, 1994) selon la réaction suivante:



Il se forme donc 19 fois plus d'ATP que par métabolisme anaérobie (Vladescu, 1994). Toute l'énergie biochimique potentielle contenue dans le glucose étant libérée, la levure peut seulement assurer son maintien en vie, mais aussi synthétiser de la matière organique. Donc elle va entrer en croissance et se multiplier. La respiration fait intervenir de nombreuses enzymes

mitochondriales (Figure 7). Cette fois, le pyruvate, en présence d'oxygène sera transformée en acétyl coenzyme A qui permettra l'entrée dans un cycle de dégradation des acides tricarboxyliques (Cycle de Krebs). La chaîne respiratoire, dont le rendement énergétique est beaucoup plus efficace, est préférentiellement utilisée par la levure. Néanmoins, cette préférence est limitée par l'effet Crabtree (Guinet *et al.*, 1994).

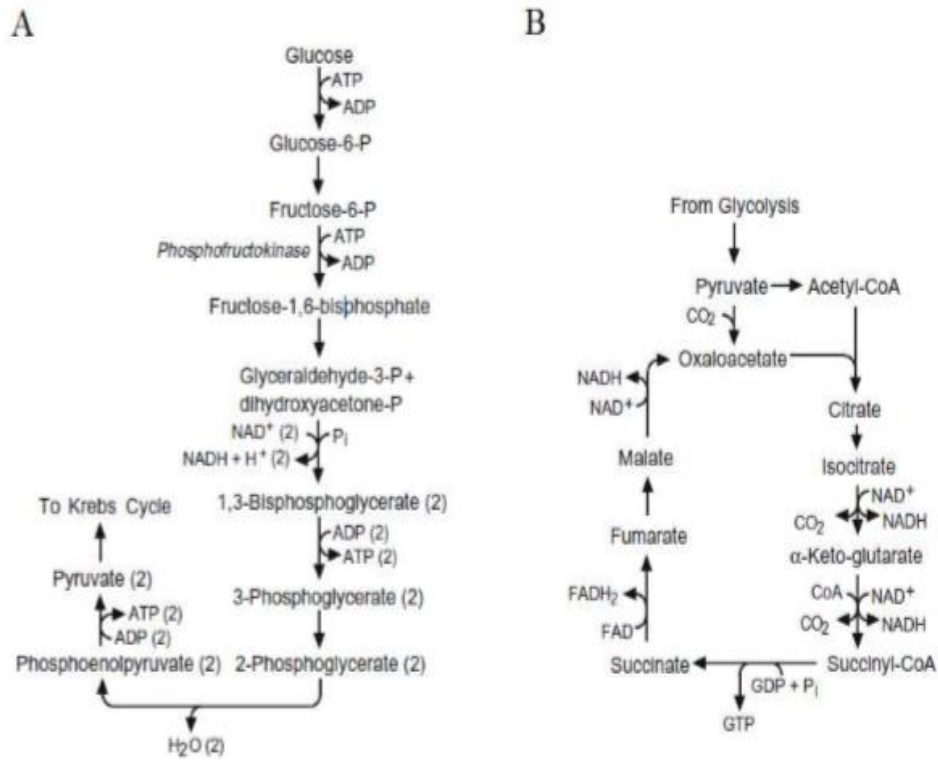


Figure 7 : schéma de la glycolyse (A) et du cycle de Krebs (B) (respiration) (Fritsche, 1972)

2.3.5.2. En anaérobiose (fermentation) :

Lorsque la levure ne dispose pas d'oxygène, elle peut néanmoins utiliser des sucres pour produire l'énergie nécessaire à son maintien en vie. Ce processus métabolique a été défini par Pasteur comme étant celui de la fermentation. Les sucres sont transformés en gaz carbonique et en alcool (Leyral *et al.*, 2007).

L'oxydation du glucose est incomplète on parle de fermentation ou de vie sans air (Regnault IP., 1990). Selon Scriban (1988) (Scriban, 1988), Guinet et Godon (1994) (Guinet *et al.*, 1994), Hesclot et Vladescu (1994) (Hesclot *et al.*, 1994), la réaction est la suivante :



L'alcool formé contient encore beaucoup d'énergie. Il n'y a donc qu'une partie de l'énergie biochimique potentiellement présente dans le glucose qui a été libérée. Ainsi, on note environ 19 fois moins que pour la respiration. Elle assure un minimum vital à la levure, sans lui permettant de se multiplier rapidement (Guinet *et al.*, 1994).

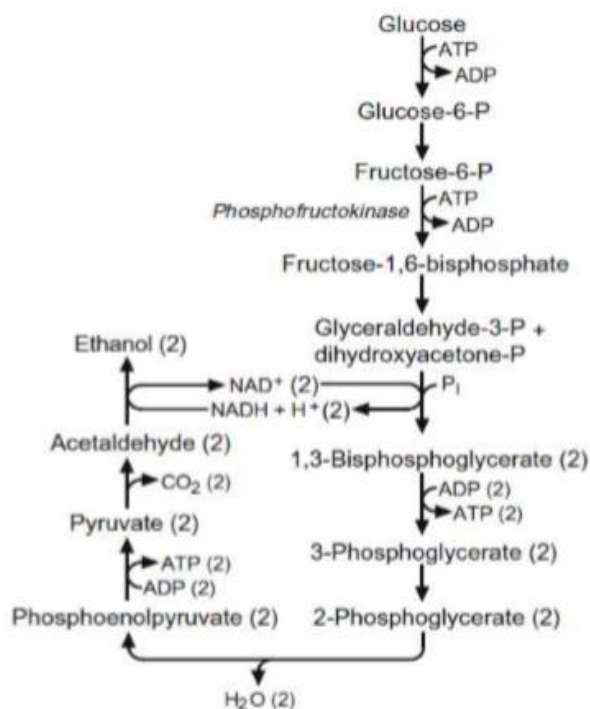


Figure 8 : schéma de la glycolyse (fermentation) (Fritsche, 1972)

Ce métabolisme se caractérise généralement par un ensemble de réactions qui se produisent en absence d'oxygène comme accepteur final d'électron. Le métabolisme en anaérobie porte le nom scientifique de glycolyse. Il s'agit de la dégradation des glucides en pyruvate, qui fait intervenir 30 à 65 % des protéines cellulaires que constituent les enzymes. Le glucose qui est un sucre à 6 atomes de carbone pénètre dans la cellule où il subit des phosphorylations consommatrices d'énergie avant d'être scindé en 2 molécules et à 3 atomes de carbone.

Ces dernières entreront chacune dans une série de réactions aboutissant au pyruvate, qui en l'absence d'oxygène est transformé en acétaldéhyde puis en éthanol et sera ensuite excrété par la cellule (Guinet *et al.*, 1994).

2.3.6. Influence des paramètres environnementaux sur le métabolisme de la levure :

2.3.6.1. Influence du pH :

La levure *Saccharomyces cerevisiae* présente l'avantage de croître sur un milieu acide, pour lequel la plupart des bactéries ne se développent pas. Elle préfère un pH compris entre 4,5 et 5 (Revuz, 1979).

2.3.6.2. Influence de la température :

La température convenable pour la levure *Saccharomyces cerevisiae* se situe entre 25°C et 35°C. Il s'agit d'organismes mésophiles (Larpen et al., 1985), l'augmentation de la température accroît la vitesse de la production de certains métabolites comme l'éthanol [58]. Mais, elle augmente la sensibilité et l'effet néfaste des stress tels que les chocs osmotiques qui provoque une diminution de la viabilité, et de l'activité cellulaire (Maréchale et al., 1999).

2.3.6.3. Influence de l'éthanol :

L'éthanol représente la principale cause de stress et devient toxique à des concentrations allant de 8 à 18% (m/v) pendant la culture et ceci selon l'état physiologique de l'organisme. Une fois la concentration de l'éthanol augmente dans le milieu de culture, on assiste à une diminution de la vitesse de la croissance, de la viabilité cellulaire, de l'activité métabolique et de la capacité de production de la levure (Alguilera et al., 2006).

2.3.6.4. Influence de l'oxygène :

La concentration en oxygène dissous dans le milieu de culture est un paramètre important qui va orienter (en fonction de la souche utilisée, du mode de conduite, ...) le métabolisme du microorganisme considéré. Quelques auteurs comme Ryu D.D. et al. (1984), ont démontré que la tolérance à l'éthanol peut augmenter notablement lorsqu'on maintient un apport de faibles quantités d'oxygène dans le système.

2.3.6.5. Influence du substrat :

En général, l'inhibition par le substrat se manifeste de façon importante pour des concentrations qui varient entre 150 et 250 g.L⁻¹ de glucose et à 400 g.L⁻¹, la croissance est totalement stoppée (Wang, et al., 1979).

3. Le procédé de distillation :

3.1. Définition :

La distillation est un procédé de séparation de mélange des substances liquides dont les températures d'ébullition sont différentes. Elle permet de séparer les constituants d'un mélange homogène. Sous l'effet de la chaleur ou d'une faible pression (loi des gaz parfaits), les substances se vaporisent successivement, et la vapeur obtenue est liquéfiée pour donner le distillat (Wikipédia , 2019).

3.2. Principe :

Les substances mélangées n'ont pas la même pression de vapeur à une température donnée. Par exemple le vin, il est constitué d'un mélange homogène d'eau et d'alcool. Avec une pression atmosphérique normale, l'eau ne bout qu'à 100°C alors que l'alcool bout déjà vers 78°C.

Pour séparer l'alcool de l'eau, il suffit de chauffer le mélange homogène eau et alcool à plus de 78°C. L'alcool commence alors à bouillir et des vapeurs très riches en alcool se dégagent. Néanmoins, il faut rester sous les 100°C , sinon l'eau commence également à bouillir.

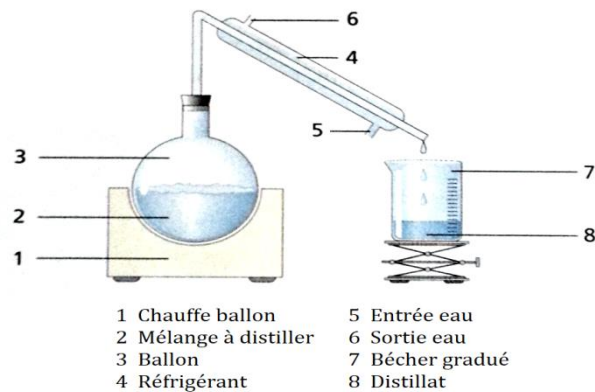


Figure 9 : Schéma d'une distillation classique

la vapeur est ainsi obtenue dans la partie supérieure du ballon. Ce mélange de vapeur parcourt le réfrigérant qui fait passer un liquide réfrigérant. De cette façon la température redescend au-dessous des 78°C engendrant ainsi la condensation des vapeurs d'alcool, donnant au final un liquide riche en alcool, le distillat.

3.3. 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.

- 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.

- 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.

Un autre genre de distillation existe, c'est la distillation fractionnée.

- 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.

La production du bioéthanol

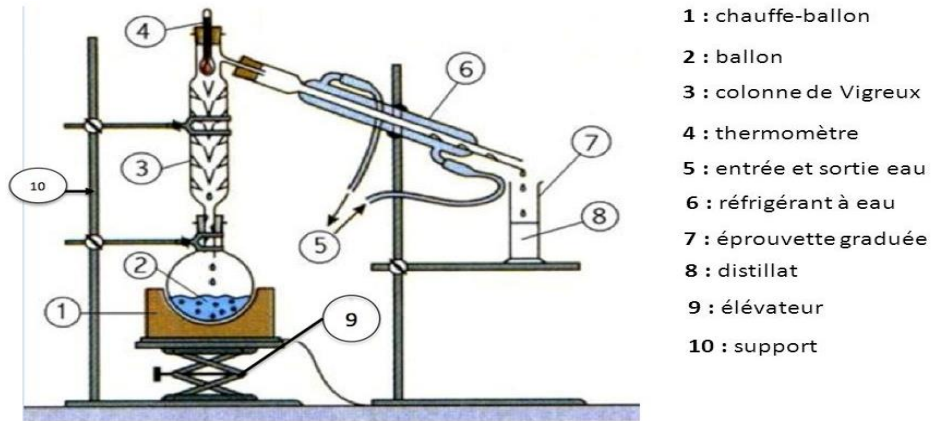


Figure 10 : schéma du montage de la distillation fractionnée (Lothair, 2014)

Chapitre 3

Matériels et méthodes

1. Introduction :

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.

L'ensemble des méthodes, protocoles et dispositifs expérimentaux qui vont être présentés dans ce chapitre ont été sélectionnés et choisis afin de nous permettre:

- D'analyser le taux de sucres totaux : sucres réducteurs et saccharose contenus dans la mélasse ;
- L'élaboration de procédés de fermentations en étudiant trois paramètres des plus importants pour une fermentation, outre la température et le pH, ce sont : le taux de sucres totaux (dilution de la mélasse), la quantité de levure et le taux de l'urée utilisée comme nutriment pour la levure ;
- La récupération de l'éthanol après distillation du moût de mélasse fermenté .

Chaque méthode et technique est accompagnée de schémas et protocoles explicatifs rendant la lecture et la compréhension aisée et la reproduction possible.

2. Matériels et méthodes :

2.1. Matériels végétales (Biomasse) :

La biomasse utilisée dans notre travail est une mélasse de canne à sucre, elle provient de la raffinerie de sucre de BERRAHAL , elle a été stockée à 4°C avant l'utilisation pour empêcher toute contamination ou propagation de micro-organismes néfaste. La mélasse est de couleur brune, d'une densité de 1,4 et une teneur en matières sèches de 80 %, ainsi qu'une teneur en sucres qui va être déterminée dans ce qui va suivre.

2.1.1 Dosages des sucres présents dans la mélasse :

2.1.1.1 Dosages des sucres totaux (Wiley et al., 2001):

Il est parfois nécessaire de quantifier le taux de sucres dans certains milieux. Que les sucres soient en présence de sels ou de résidus de protéine ou attachés à un polymère, le test du phénol-acide sulfurique peut être effectué (c'est une méthode colorimétrique proposée par Dubois et al, 1956). La méthode est générale et peut être appliquée pour les sucres réducteurs ainsi que les sucres non réducteurs. La détermination des sucres en utilisant cette méthode est

basée sur l'absorbance à 490 nm d'un complexe aromatique coloré formé entre le phénol et le sucre. La quantité de sucre présent est déterminée par comparaison d'une courbe d'étalonnage en utilisant un spectrophotomètre. Dans les conditions appropriées, la méthode du phénol-acide sulfurique est précise à ± 2 %. Si un spectrophotomètre n'est pas disponible, la méthode peut être effectuée mais qualitativement par comparaison visuelle directe avec les échantillons colorés.

- **Matériels et produits:**

Phénol 4% : 4 g de phénol dans 100 ml d'eau distillée (stockable jusqu'à 6 mois à température ambiante)

Acide sulfurique 96% (solution commerciale)

Solution de saccharose 1mg/1ml

Solution de mélasse 1mg/1ml

Tubes à essai à vis de 10 ml

Spectrophotomètre JENWAY 6715 UV

Agitateur magnétique STUART UC 152

Micropipette Scilogex de 5-200 μ l et de 200-1000 μ l

- **Mode opératoire :**

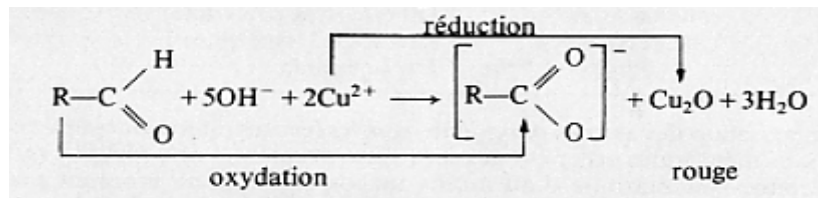
- Laver les tubes à essai avec de l'eau distillée. Régler le spectrophotomètre à 490 nm, et laisser la lampe se réchauffer, puis, le calibrer à zéro avec une solution à blanc de 500 μ l de phénol 4% et 2,5 ml d'acide sulfurique 96%.
- Préparer la gamme d'étalonnage en transférant un volume de la solution de saccharose (concentrée à 1mg/1ml) allant de 5 à 50 μ l avec une incrémentation de 5 μ l à 10 différents tubes à essai numérotés de 1 à 10.
- Transférer 50 μ l de la solution de mélasse dans un tube à essai .
- A tous les tubes, ajouter 500 μ l de phénol 4% et 2,5 ml d'acide sulfurique 96%.
- Transférer les solutions des tubes à essais à des cuves pour spectrophotomètre remplies au $3/4$ et lire l'absorbance à 490 nm.
- Si l'absorbance est supérieur à 1.0 D.O, diluer les échantillons avec de l'eau distillée (dans notre cas, 2 ml d'eau distillée a été ajouter à 1 ml de chaque échantillon).
- Réaliser une courbe d'étalonnage qui représente l'absorbance en fonction de la quantité croissante des sucres en μ g.
- Calculer le pourcentage du sucre contenu dans l'échantillon de mélasse en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage du sucre (\% par masse)} = \frac{x (\mu\text{g})}{m (\mu\text{g})} \times 100$$

- Avec 'x' la masse (μg) de l'échantillon du sucre déduite à partir de la courbe d'étalonnage, et 'm' la masse (μg) de l'échantillon de mélasse.

2.1.1.2 Dosage des sucres réducteurs et du saccharose (Ducamp et al., 2016):

La liqueur de Fehling est une solution contenant des ions cuivre II (Cu^{2+}), de couleur bleue. Les oses (aldoses comme le glucose) renferment un groupement aldéhydique libre qui réduit en milieu alcalin et à chaud, les ions de cuivre (Cu^{2+}) en oxyde de cuivre (Cu_2O) selon l'équation suivante :



C'est le même cas pour les cétooses comme le fructose, car ce dernier peut donner du glucose ou du mannose selon la transformation de Lobry de Bruyn-van Ekenstein.

- Matériels et produits :

Solution Fehling A

Solution Fehling B

Bleu de méthylène 1% :

- 0,1 g de bleu de méthylène dans 100 ml d'eau distillée

Solution étalon de glucose 10g/L :

- 1g de glucose dans 100 ml d'eau distillée

Solution de mélasse 30g/L :

- 3 g de mélasse dans 100 ml d'eau distillée

Solution HCl 2M :

- 3,34 ml d'HCl (37%) dans 20 ml d'eau distillée (q.s.p)

Solution NaOH 2M :

- 4 g de pastille de NaOH dans 50 ml d'eau distillée

Eau distillée

Fiole 50 ml

Eprouvette graduée 10 et 50 ml

Pipette 5 ml

Pro-pipette

Burette 25 ml et support pour burette

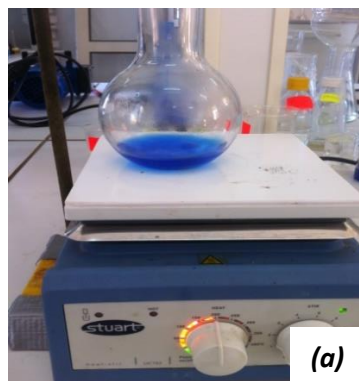
Agitateur magnétique chauffant STUART UC 152

pH mètre de type inolab 7110

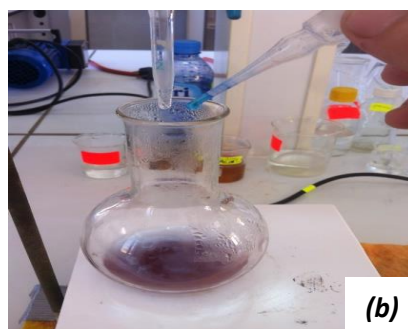
- **Mode opératoire :**

➤ **Etalonnage de la liqueur de Fehling :**

- Introduire 5 ml de solution A + 5 ml de solution B + 15 ml d'eau distillée dans une fiole (Figure a).



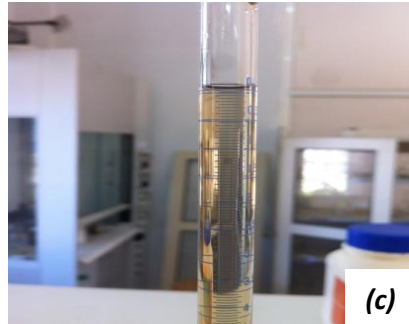
- Porter à ébullition et verser goutte à goutte la solution étalon de glucose placée dans la burette.
- Formation d'un précipité bleu rouge d'oxyde cuivreux, le surnageant bleu se décolore.
- Lorsqu'il est presque incolore, ajouter quelque goutte de bleu de méthylène (Figure b).



- Noter **V** le volume versé en **ml** à décoloration complète.

➤ Dosage des sucres réducteurs :

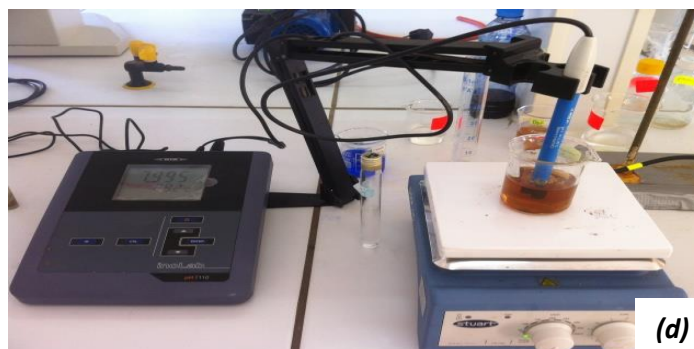
- Introduire 5 ml de solution A + 5 ml de solution B + 15 ml d'eau distillée dans une fiole.
- Porter à ébullition et verser goutte à goutte la solution de mélasse placée dans la burette (Figure c).



- Formation d'un précipité bleu rouge d'oxyde cuivreux, le surnageant bleu se décolore.
- Noter **V'** le volume versé en **ml** à décoloration complète

➤ Dosage du saccharose (Hydrolyse du saccharose en glucose et fructose):

- Mettre à chauffer à feu doux 5 ml d'une solution d'HCl 2M avec 3 g de mélasse pendant 20 min.
- Laisser refroidir.
- Ajuster le pH à 8 en versant goutte à goutte une solution de NaOH 2M (Figure d).



- Mettre dans une fiole jaugée et compléter jusqu'à 100 ml.
- Introduire 5 ml de solution A + 5 ml de solution B + 15 ml d'eau distillée dans une fiole.

- Porter à ébullition et verser goutte à goutte la solution de mélasse hydrolysée placée dans la burette.
- Formation d'un précipité bleu rouge d'oxyde cuivreux, le surnageant bleu se décolore.
- Noter V'' le volume versé en ml à décoloration complète.

➤ Calcul des concentrations massiques :

Soit « g » la solution de glucose et « x » la solution à doser.

Pour la même quantité de solution de liqueur de Fehling utilisée (25 ml) , la relation est :

n (glucose) = n (sucres solution x) avec « n » le nombre de moles

Donc : $n_g = n_x \Rightarrow C_g \cdot V_g = C_x \cdot V_x$ avec « C » la concentration molaire et « V » le volume

Si on raisonne en concentration massique : $C_m = C \cdot M$, d'où M est identique dans les deux solutions puisque c'est la masse molaire du glucose (et celle du fructose aussi, $M=180$ g/mole), on obtient : $Cm_g \cdot V_g = Cm_x \cdot V_x$.

Comme Cm_x est l'inconnu, on obtient : $Cm_x = \frac{Cm_g \cdot V_g}{V_x}$

2.2. Matériels biologiques :

La levure utilisée au cours des expériences réalisées et présentées dans ce chapitre est la levure *Saccharomyces cerevisiae* ou la levure de boulanger de la marque saf-instant de la société S.I. Lesaffre commercialisée en Algérie, bien qu'il existe des souches et plusieurs même de cette levure destinées spécialement à l'industrie agro-alimentaire et à celle de production de bioéthanol, on peut citer :

- la souche Angel Super Alcohol Active Dry Yeast de la société Angel yeast Co.
- la souche Ethanol Red de la société Fermentis.

2.3. Le procédé de fermentation :

Les préparations des moûts pour fermentations dans notre travail sont inspirées de celui de Abdel Moneim E. Sulieman et *al.* (2012) qui est : La production de l'éthanol à partir de la mélasse de canne à sucre et l'évaluation de sa qualité.

Quatre tests sur les fermentations ont été mis en œuvre, le premier était d'essayer de conduire une fermentation sans l'ajout de l'urée, le deuxième sur la concentration de l'urée par rapport à la quantité de levure (facteur de croissance pour la levure), le troisième concerne la

quantité de levure à ajouter par rapport à celle des sucres, le quatrième et le dernier prend en considération la concentration des sucres dans le mélange à fermenter. L'étude et la prise en compte de ces trois paramètres est nécessaire pour le bon déroulement d'une fermentation, outre le pH, la température et l'ajout d'autres nutriments qui favorise la croissance et la multiplication et l'activité de la levure.

Selon Abdel Moneim E. et *al.* (2012), le meilleur rendement en éthanol obtenu est de 20ml par 100g de mélasse (mélasse contenant 50% de sucres). Le moût qui a donné ce résultat contient : 240g de mélasse (120g de sucres), 30g de levure (5% m/v) et 1,5 g d'urée (0,25 % m/v) et de l'eau distillée q.s.p 600 ml. Comme premier test, on a réalisé un moût pareil, le pH ajusté à 4.8 , la température à 33°C et la fermentation a été conduite pour une durée de 72 h. La densité a chuté de 1,125 à 1,053, mais, le produit final sentait la levure beaucoup plus que l'alcool, ce qui, nous a amené à réeffectuer une recherche bibliographique concernant la dose de levure dans le moût. Selon plusieurs sources dont Jules L. (2014) , la dose minimale de levure à ajouter est de 20g/hl (0,2g/L) mais peut aller jusqu'à 40g/hl (0,4g/L), si on utilise des levures sélectionnées.

Dans ce qui va suivre, on va voir les quatre tests réalisés pour essayer de comprendre les effets des paramètres étudiés et d'obtenir à chaque fois une meilleure conduite de fermentation et donc une meilleure teneur en alcool, la méthode de préparation des moûts pour fermentation et la même pour tous les tests qui vont suivre.

2.3.1 Préparation de l'inoculum :

L'inoculum a été préparé par introduction de la levure sèche (lyophilisée) dans 10 ml d'eau distillée tiède (25°C) pour environ 20 min afin de l'hydrater.



2.3.2 Préparation des moûts pour fermentations :

Afin de réaliser une acclimatation des souches de levures avec le substrat sucré à fermenter (la mélasse), une pré-fermentation a été réalisée par incorporation de l'inoculum dans 1/10 de la quantité total de mélasse à fermenter et laisser sous agitation pendant 24 heures dans une enceinte fermée et dans un environnement contrôlé. Ensuite le mélange a été additionné au 9/10 du volume de mélasse restant. Ainsi, l'urée (NH_2CONH_2) choisie comme facteur de croissance a été additionnée vu son utilité pour la croissance des levures, principalement dans la biosynthèse d'acides aminés, de protéines, d'acides nucléiques, de vitamines, de coenzymes et dans d'autres fonctions comme l'osmorégulation (Guiraud, 1998 ; Hohmann, 2002), le pH ajusté à 4,8 avec de l'acide sulfurique 96% et la température à 33°C.

Le suivi du déroulement des fermentations comprend deux paramètres : la densité, mesurée avec un densimètre (mustimètre ou hydromètre) de DUJARDIN SALLERON , et le degré Baumé (°Bé) à l'aide d'un réfractomètre mobile de marque ALLA France.

2.3.2.1 Test N°01 : Absence de l'urée :

La quantité de chacun des constituants du moût pour ce test est notée dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Préparation des moûts pour le test N°01

N° Echantillon	1
Qte Mlss (g)	200
Qte Lv (g)	0,5
Vol ED q.s.p (ml)	600
pH	4,8
T° (°C)	33

2.3.2.2 Test N°02 : Test du taux de l'urée par rapport à la quantité de levure :

La quantité de chacun des constituants du moût pour ce test est notée dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Préparation des moûts pour le test N°02

N° Echantillon	1	2	3
Qte Mlss (g)	200		
Qte Lv (g)	0,5		

Qte Ur (g)	0,15	0,25	0,5
Conc Ur *	30 %	50 %	100 %
Vol ED q.s.p (ml)	600		
pH	4,8		
T° (°C)	33		

* : Par rapport à la masse de levure.

2.3.2.3 Test N°03 : Test du taux de la levure par rapport à la quantité de sucre :

La quantité de chacun des constituants du moût pour ce test est notée dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Préparation des moûts pour le test N°03

N° Echantillon	1	2	3
Qte Mlss (g)	200		
Qte Lv (g)	1	2	4
Conc Lv *	0,71 %	1,42 %	2,84 %
Qte Ur (g)	0,5	1	2
Vol ED q.s.p (ml)	600		
pH	4,8		
T° (°C)	30		

* : Par rapport à la masse du sucre.

2.3.2.4 Test N°04 : Test du taux de sucre dans le moût :

La quantité de chacun des constituants du moût pour ce test est notée dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Préparation des moûts pour le test N°04

N° Echantillon	1	2	3	4
Qte Mlss (g)	85	170	214	257
Conc sucre *	10 %	20 %	25 %	30 %
Qte Lv (g)	0,85	1,70	2,14	2,57
Qte Ur (g)	0,42	0,85	1,07	1,28
Vol ED q.s.p (ml)	600			
pH	4,8			
T° (°C)	30			

* : Par rapport au volume totale du moût (m/v).

2.4. Le procédé de distillation :

2.4.1. Matériels et méthodes :

Après fermentation, et afin d'extraire l'éthanol ou le bioéthanol du moût fermenté, une distillation est nécessaire, dans le cas de ce projet, le type de distillation choisit est la distillation simple (non fractionnée). 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 un chauffe ballon réglé à 79°.

Un pré-traitement du moût fermenté est requis avant d'entamer la distillation, il consiste en l'ajout du lait de chaux et de la pierre ponce.

Remarque : Deux échantillons ont été préparés spécialement pour la distillation. ils contiennent la même composition que celle de l'échantillon 3 du test N°04. Leur fermentation a été conduite pendant 72 h à une température de 30°C.

2.4.2. Identification de l'éthanol :

Bien qu'il existe de nombreuses techniques pour détecter la présence d'alcool dans un mélange, on a choisis 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.

2.4.3. Calcul du taux d'éthanol :

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 hydroalcoolique, 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 11) pour avoir le pourcentage volumique (% vol) de l'éthanol, soit dans le tableau des masses volumiques des liquides hydroalcooliques (Benjamin, 2009)(voir annexes) .

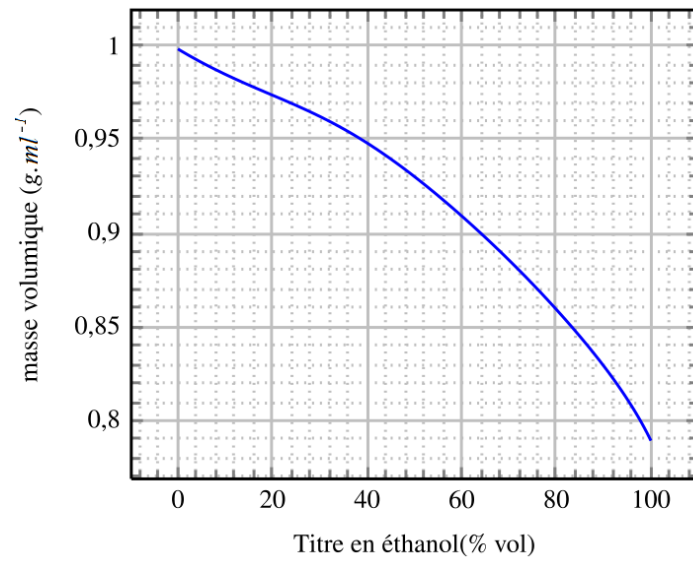


Figure 11 : Courbe des masses volumiques (g/ml) de mélanges eau-alcool à 20 °C en fonction du titre en pourcentage volumique (% vol) à 20 °C (Benjamin, 2009)

Chapitre 4

Résultats et discussions

1. Introduction :

Tout le contenu présenté dans ce chapitre est le résultat des différentes expérimentations présentées dans le chapitre précédent. Ces résultats vont être interprétés et discutés afin de mieux comprendre le phénomène de la fermentation alcoolique, ainsi que les paramètres nécessaires permettant d'avoir le maximum de produit, qui est l'éthanol. Les points présentés ici portent sur :

- La composition chimique de la mélasse : du pH à la teneur en saccharose, en passant par celles des sucres réducteurs et les sucres totaux.
- Les résultats des différentes préparations et tests réalisés des fermentations.
- La mise en évidence de l'éthanol dans les moûts fermentés et le calcul de leur teneur en alcool.

2. Composition chimique de la mélasse :

2.1. pH:

Le pH de la mélasse a été mesurer à l'aide d'un pH mètre de type inolab 7110 et sa valeur est de 6.

2.2. Brix:

La valeur du Brix qui est le taux de matières sèches nous a été fournie par le laboratoire de la raffinerie BERRAHAL, elle est de 80° .

2.3. Le taux de sucres :

2.3.1. Le taux de sucres totaux :

Le tableau suivant représente la variation de l'absorbance en fonction de la quantité de sucre, il a été réalisé après avoir mesuré la densité optique de tous les échantillons et par la suite nous a permis d'élaborer une courbe d'étalonnage (Figure 12).

Tableau 7: Valeurs de l'absorbance selon la quantité de saccharose

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Qte de Saccharose (µg)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
D.O	0,010	0,018	0,021	0,033	0,044	0,057	0,069	0,079	0,090	0,110

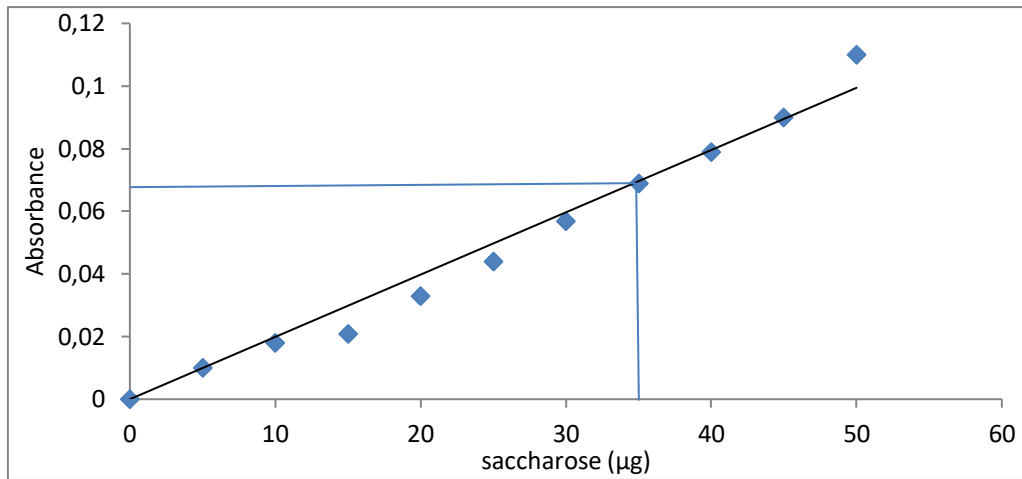


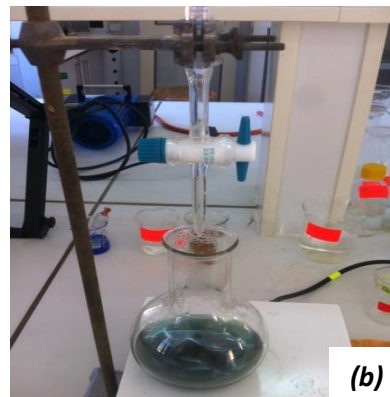
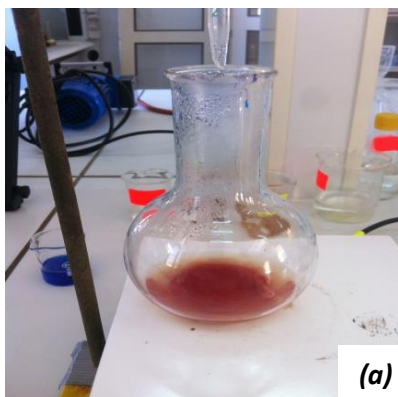
Figure 12 : Droite d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la quantité de sucre

Après avoir réalisé la droite d'étalonnage, on peut projeter dessus la valeur de l'absorbance de notre échantillon $D.O = 0.068$, et en déduire la quantité de sucre qui est de $34,10 \mu\text{g}$, puis son pourcentage par rapport à la masse de l'échantillon de la mélasse :

$$\text{Pourcentage du sucre} = \frac{34,10}{50} \times 100 = 68,2 \%$$

Donc notre échantillon de mélasse, et suite au test du Phénol-Acide sulfurique, a une teneur en sucre totaux de 68,2%.

2.3.2. Le taux de sucres réducteurs :



Après avoir effectué le test de Fehling, on a pu constater un virage de couleur du bleu vers le rouge brique lors de la première phase, qui est l'étalonnage de la liqueur de Fehling par le glucose (Figure a), par contre, et suite au dosage de la solution qui contient notre échantillon de mélasse, aucun virage de la couleur bleu n'a été constaté (Figure b), ce qui nous ramène à déduire que cet échantillon ne contient pas de sucres réducteurs.

On va procéder maintenant aux calculs des concentrations des sucres réducteurs en utilisant l'équation présentée dans le chapitre précédent (Chapitre 3 2.2.1.2-d) pour confirmer les résultats observés.

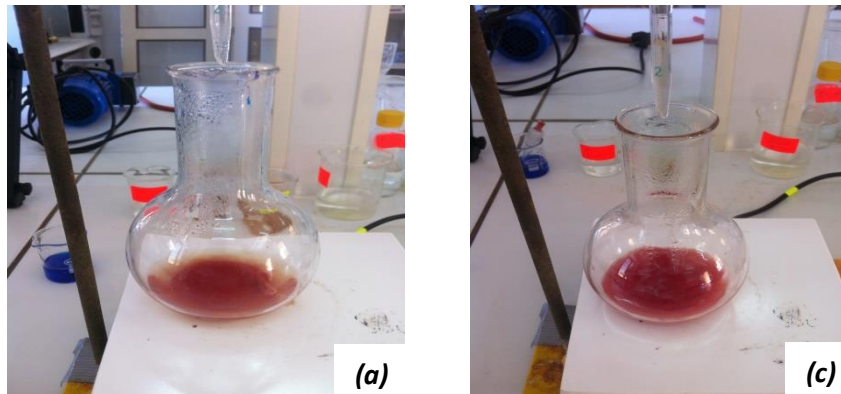
On a : $Cm_g = 10 \text{ g/L}$, $V_g = 8 \text{ ml}$ ($\text{Moy} = \frac{7,9 + 8 + 8,1}{3}$), $V' > 50$

Si on prend en considération toutes les données qu'on a : $Cm_x = 10 \cdot \frac{8}{50}$

Donc la concentration massique $Cm_x \leq 1,6 \text{ g/L}$

Comme notre solution de mélasse est concentrée à 30g/L, et suite au calcul précédent, on a moins de 1,6 g de sucres réducteurs dans les 30 g de mélasse, donc moins de 5,5 %.

2.3.3. Le taux de saccharose :



Pour le dosage du saccharose et avant de réaliser le test de Fehling, on a procédé à l'hydrolyse du saccharose en sucres invertis (glucose et fructose) avec de l'acide chlorhydrique. Après titration, un virage de la couleur bleu de la liqueur de Fehling vers le rouge brique a été constaté (Figure c), il est de même pour l'étalonnage de la dite liqueur (Figure a).

Pour calculer la concentration du saccharose dans la solution, on a utilisé l'équation présentée dans le chapitre 2 (2.2.1.2-d).

On a : $Cm_g = 10 \text{ g/L}$, $V_g = 8 \text{ ml}$ ($\text{Moy} = \frac{7,9 + 8 + 8,1}{3}$), $V'' = 3,7 \text{ ml}$ ($\text{Moy} = \frac{3,8 + 3,5 + 3,9}{3}$)

Si on prend en considération toutes les données qu'on a : $Cm_x = 10.8/3,7$

Donc la concentration massique $Cm_x = 21,62$ g/L

Comme notre solution de mélasse est concentrée à 30g/L, les 30 gramme de mélasse contiennent 21,62 gramme de saccharose, donc un pourcentage de 72%.

Remarque : D'après les résultats qui concernent la teneur en sucres, nôtre mélasse peut contenir entre 68,2 %, et 72 % de sucres totaux par rapport à celle de Benyahya et al, 2017, qui est de 64 % . Le taux des sucres totaux a été fixée à 70 % (moyenne) pour simplifier les calculs dans les prochains tests.

3. Effet des différents paramètres étudiés sur la fermentation :

3.1. Effet du non ajout de l'urée comme nutriment (Test N°01):

Suite aux résultats obtenus dans ce test, et qui sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 8), on peut voir qu'il y a une légère diminution de la densité (de 1,110 à 1,087) ainsi que du degré Baumé (14,3 à 11,6) après cinq jours de fermentation, ce qui met en cause la faible activité de la levure dans le milieu. Cela, peut être due majoritairement à l'absence de l'urée, car, comme cité dans le Chapitre 2 (2.3.3), l'ajout de l'urée $CO(NH)_2$ comme source d'azote est nécessaire au métabolisme cellulaire de la levure, elle est utilisée dans la synthèse des acide aminés, des acides nucléiques ainsi que certaines vitamines, donc, sa présence est très importante pour la multiplication cellulaire.

Tableau 8 : Résultat de l'Effet du non ajout de l'urée comme nutriment

N° Echantillon	1
Qte Mlss (g)	200
Qte Lv (g)	0,5
Vol ED q.s.p (ml)	600
pH	4,8
T° (°C)	33
Densité de départ	1,110
°Bé de départ	14,3
Après 72h, 4 ^{ème} jour	
Densité	1,095

°Bé	12,5
5 ^{ème} jour	
Densité	1,087
°Bé	11,6

3.2. La quantité d'urée à ajouter au moût par rapport à la quantité de levure (Test N°02) :

Ce test nous a permis de voir et d'essayer de déterminer la dose ou la quantité d'urée optimal et convenable (par rapport à la quantité de la levure) pour le bon déroulement d'une fermentation ainsi qu'une activité maximale de la levure, c'est à dire une consommation de plus de 90% des sucres présents dans le moût.

Tableau 9 : Résultat de la quantité d'urée à ajouter au moût par rapport à la quantité de levure

N° Echantillon	1	2	3
Qte Mlss (g)	200		
Qte Lv (g)	0,5		
Qte Ur (g)	0,15	0,25	0,5
Conc Ur	30 %	50 %	100 %
Vol ED q.s.p (ml)	600		
pH	4,8		
T° (°C)	33		
Densité de départ	1,110	1,110	1,110
°Bé de départ	14,3	14,3	14,3
Après 72h, 4 ^{ème} jours			
Densité	1,058	1,050	1,055
°Bé	7,9	6,9	7,5
5 ^{ème} jours			
Densité	1,040	1,035	1,037
°Bé	5,6	5	5,2
6 ^{ème} jours			
Densité	1,039	1,030	1,035
°Bé	5,4	4,2	4,8
7 ^{ème} jours			
Densité	1,032	1,025	1,030

°Bé	4,5	3,5	4,2
8 ^{ème} jours			
Densité	1,030	1,023	1,030
°Bé	4,2	3,3	4,2
Différence de densité (initiale-finale)	0,08	0,087	0,08
Différence de °Bé (initiale-finale)	10,1	11	10,1

Suite au données des résultats du test mentionnées dans le tableau ci-dessus (Tableau 9), une plus grande diminution de densité (de 1,110 à 1,050 soit une différence de 0,06) et du degré Baumé (de 14,3 à 6,9) a été constaté pour le 2^{ème} échantillon après 72h de fermentation, contrairement aux deux autres, où la différence de densité était de 0,052 pour l'échantillon 1 et de 0,055 pour le 3^{ème}.

Une suite de diminution des deux paramètres est observée jusqu'au 8^{ème} jour, avec toujours une plus grande différence de diminution pour l'échantillon 2 (figure 13 et figure 14). On peut conclure par ces remarques, que déjà, l'utilisation de l'urée comme nutriment pour la levure est nécessaire pour son métabolisme et pour son activité maximale, mais cela, à une quantité optimale, car dans le cas contraire, une carence peut avoir lieu comme citée dans le chapitre 2 (2.3.3). La concentration optimale obtenu dans notre cas est de 50% qui est un peu élevé si on la compare avec celle de Abdel Moneim et *al*, 2012, qui est de 5% mais cela, dans un moût qui contient 1,5 g d'urée avec 30 g de levure et 100 g de mélasse.

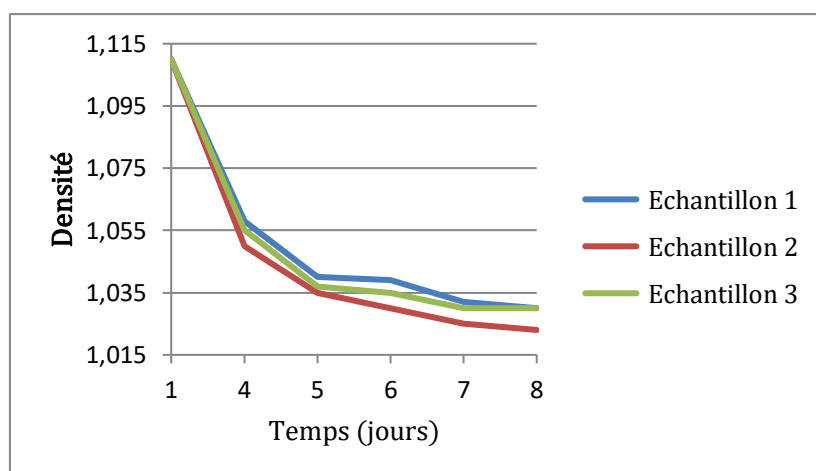


Figure 13 : Valeur de la densité en fonction du temps Test N°02

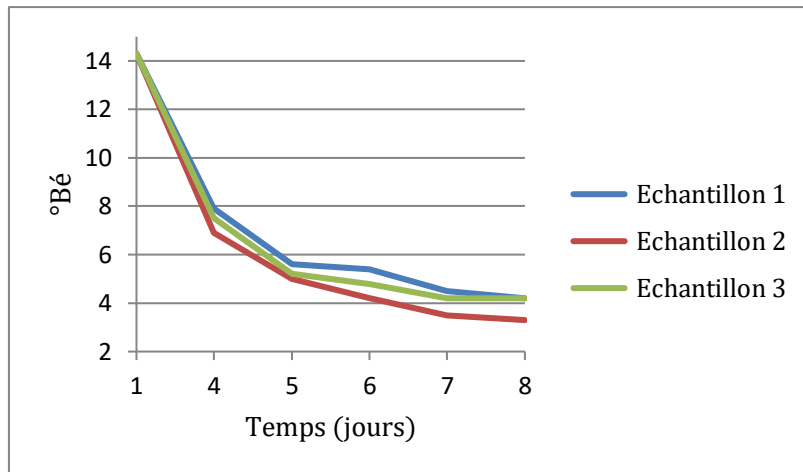


Figure 14 : Valeur du degré Baumé en fonction du temps Test N°2

Remarque : D'après les résultats données ci-dessus, on a constaté que pour arriver à une différence de densité de 0,087, il a fallu 8 jours de fermentation, tandis que et comme cité dans le chapitre 3 (2.3), la durée de fermentation est de 72 heures, ce qui nous a amenés à revoir la température optimale pour une fermentation, et de la baisser à 30°C pour les prochains tests (le ralentissement du métabolisme fermentaire est peut être due à un choc thermique, car, l'activité de la levure est exothermique). La même remarque et les mêmes résultats ont été observés dans le travail de Aldiguier et *al.*, 2004.

3.3. Effet de la quantité de levure par rapport à la quantité de sucres (Test N°03) :

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est une levure apte de fermenter les sucres en dioxyde de carbone et en éthanol. Pour un meilleur rendement de ce dernier, et comme cité auparavant, la quantité à ajouter au moût est comprise entre une concentration de 0,2 et 0.4g/L pour des levures sélectionnées (compétentes à la production d'éthanol), par contre, et suite aux résultats obtenus précédemment, on a essayé d'augmenter encore cette quantité, car la levure utilisée et la levure de boulanger .

Tableau 10 : Résultat de l' Effet de la quantité de levure par rapport à la quantité de sucres

N° Echantillon	1	2	3
Qte Mlss (g)	200		
Qte Lv (g)	1	2	4
Conc Lv	0,71 %	1,42 %	2,84 %
Qte Ur (g)	0,5	1	2
Vol ED q.s.p (ml)	600		

pH	4,8		
T° (°C)	30		
Densité de départ	1,110	1,111	1,112
°Bé de départ	14,3	14,4	14,5
Après 3 jours (72h)			
Densité	1,048	1,023	1,062
°Bé	6,6	3,3	8,4
Après 4 jours			
Densité	1,036	1,016	1,038
°Bé	5,1	2,3	5,3
Après 5 jours			
Densité	1,020	1,015	1,027
°Bé	2,8	2,2	3,8
Différence de densité (initiale-finale)	0,09	0,096	0,085
Différence de °Bé (initiale-finale)	11,5	12,2	10,7

Suite aux résultats obtenus lors de ce test, mentionnés dans le Tableau 10, la plus grande différence de densité enregistrée est de 0,088 pour l'échantillon 2 contre 0,062 pour l'échantillon 1 et 0,05 pour le troisième, et ce, après 72 h de fermentation, c'est le même cas pour le degré Baumé.

Par cette observation, on peut conclure que la fermentation de l'échantillon 2 s'est bien déroulée et que la densité a diminué jusqu'à atteindre 1,015 à la fin des 72 heures, par rapport aux deux autres, et qui n'ont atteint les 1,020 et 1,027 qu'après 120 h de fermentation, qui est une durée trop longue. Les mêmes conclusions peuvent être tirées de la Figure 15 et 16.

La quantité de levure optimale trouvée dans ce test est de 2 g dans un moût qui contient 140 g de sucres, soit un pourcentage de 1,42 %. Une quantité de 0,12 g de levure dans un moût qui contient 6,4 % de sucres soit 1.87 % a été trouvée comme concentration optimale dans les travaux de Benyahia et *al.*, 2017.

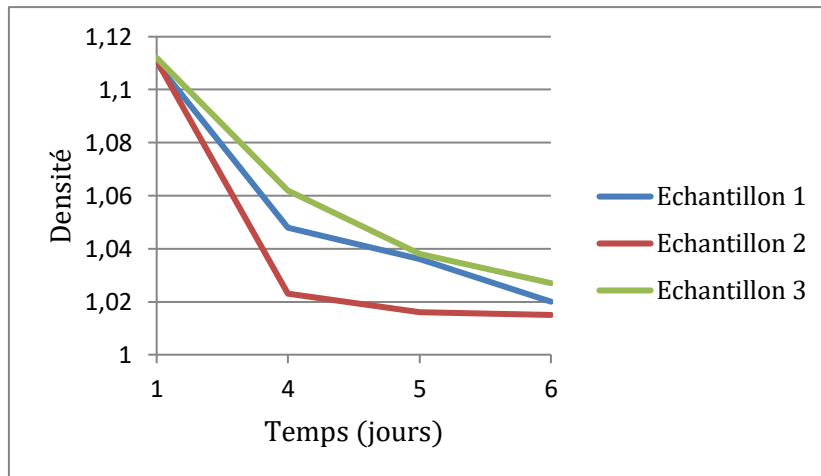


Figure 15 : Valeur de la densité en fonction du temps Test N°03

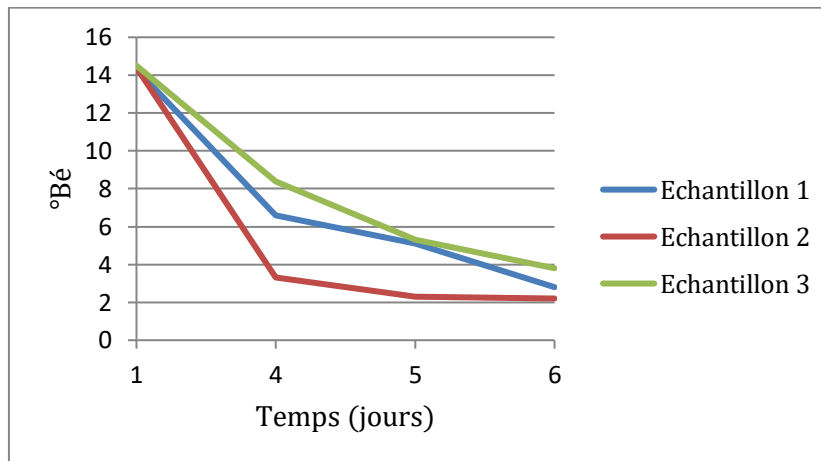


Figure 16 : Valeur du degré Baumé en fonction du temps Test N°03

3.4. Effet de la concentration de sucres dans une fermentation alcoolique (Test N°04) :

Après 72 h de fermentation, les résultats de ce test sont très concluants, car, on peut constater une nette différence des valeurs des deux paramètres utilisés pour le suivi de la fermentation (Tableau 11). Coté densité, le plus grand écart enregistré est celui de l'échantillon qui contient une concentration de sucre de 25% (échantillon 3), il est de 0.1, à la différence de l'échantillon 1, 2 et 4, qui ont successivement marqués un écart de 0.037, 0.084 et 0.002. Coté degré Baumé, le même constat peut être fait, car, le plus grand écart de la valeur du dit degré est toujours celui de l'échantillon 3, si, comparé aux autres échantillons (Figure 17 et 18).

Tableau 11 : Résultat de l' Effet de la concentration de sucres dans une fermentation alcoolique

N° Echantillon	1	2	3	4
Qte Mlss (g)	85	170	214	257
Conc sucre	10%	20%	25%	30%
Qte Lv (g)	0,85	1,70	2,14	2,57
Qte Ur (g)	0,42	0,85	1,07	1,28
Vol ED q.s.p (ml)	600			
pH	4,8			
T° (°C)	30			
Densité de départ	1,047	1,100	1,120	1,135
°Bé de départ	6,5	13,1	15,5	17,1
Après 3 jours (72h)				
Densité	1,010	1,016	1,020	1,133
°Bé	1,4	2,3	2,9	16,9
Après 4 jours				
Densité	1,006	1,015	1,018	1,132
°Bé	1	2,2	2,5	16,8
Après 5 jours				
Densité	1,006	1,015	1,018	1,132
°Bé	1	2,2	2,5	16,8
Différence de densité (initiale-finale)	0,041	0,085	0,102	0,003
Différence de °Bé (initiale-finale)	5,5	10,9	13	0,3

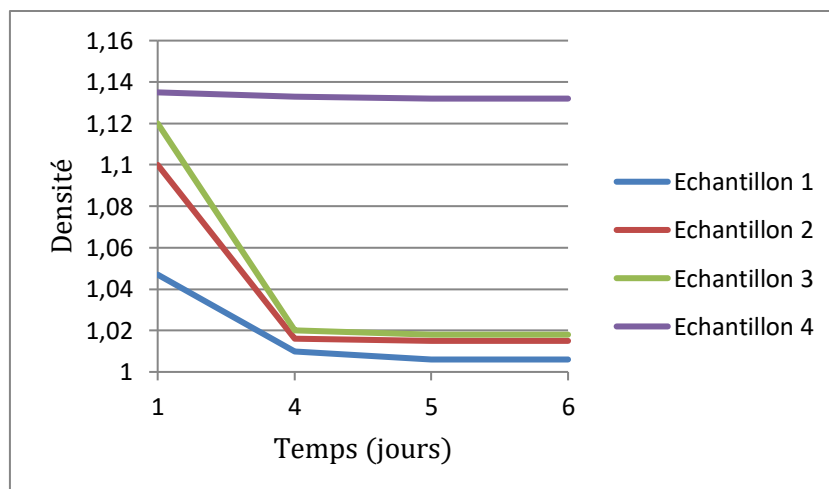


Figure 17 : Valeur de la densité en fonction du temps Test N°04

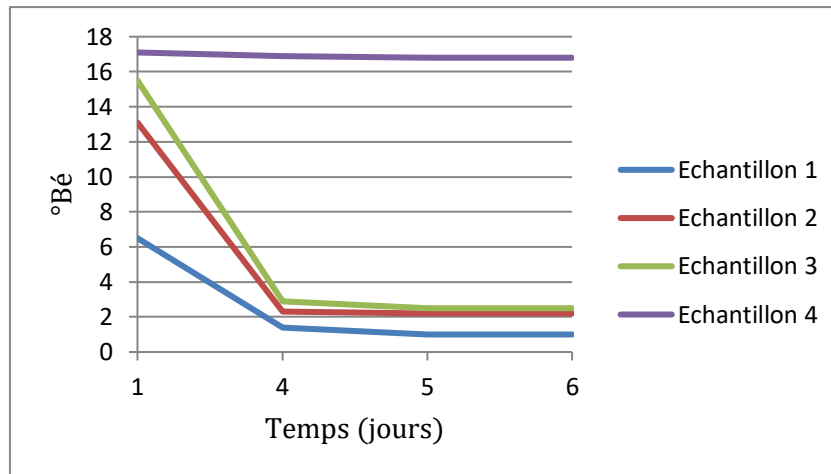


Figure 18 : Valeur du degré Baumé en fonction du temps Test N°04

Les résultats obtenus peuvent être expliqués comme cité dans le chapitre 2 (1.4.4) concernant la pression osmotique, la concentration du sucre dans le moût à une grande influence sur le déroulement de sa fermentation. Dans notre cas, si cette concentration est inférieure à 25 %, la fermentation peut avoir lieu, mais, à un rendement moins efficace si on prend en considération le point de vue économique (surplus de consommation de l'urée, de la levure, de l'énergie...), point de vue métabolisme fermentaire de la levure, une concentration élevée en sucre à plus de 25 % (30 %) engendre une pression osmotique, qui, pousse la levure à synthétiser plus de glycérol (composé produit par la levure pour équilibrer la différence de pression osmotique entre l'intérieur et l'extérieur), et donc plus d'acide acétique. Tout cela, et à l'état initial (début de FA), cause des dommages irréparables de l'état physiologique de la membrane de la levure. Donc, la plus optimale trouvée pour notre cas est de 25 %, qui est un peu supérieure à celle trouvée dans les travaux de Abdel Moneim et *al.*, 2012, et qui est de 20%.

4. Identification et calcul du taux du bioéthanol obtenu :

Au cours de la fermentation, le dégagement du dioxyde de carbone a pu être détecté, car, l'eau de chaux contenu dans la fiole est devenu trouble, et il y a eu une formation d'un précipité blanc (carbonate de calcium).

Après la fermentation, un dosage des sucres réducteurs et du saccharose a été réalisé pour les deux échantillons, le résultat était négative, donc, plus de 90 % des sucres présent dans le moût ont été fermentés.

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. 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.

Après la distillation, le test de l'identification de l'éthanol au permanganate de potassium acidifiée était positive, car, et après y avoir ajouté quelques gouttes du distillat, la couleur du milieu a virée du violet au jaune orangé.

Le volume des deux distillats obtenu a été complété jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée, puis pesé. La masse volumique du premier échantillon est de 0,98075 kg/L , donc et selon la table des masse volumiques des liquides hydroalcooliques, cet échantillon à une teneur en éthanol de 13,5 %, concernant le deuxième échantillon, sa masse volumique est de 0,98140 kg/L donc son taux en éthanol est de 13 %. Les deux résultats obtenus sont supérieurs à celui de Abdel Moneim et *al.*, et qui est de 11 %.

Conclusion Générale

L'objectif du présent projet est la production de bioéthanol à partir de la mélasse, via la voie de la fermentation alcoolique avec la levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*). Grâce à certaines modifications apportées sur des protocoles de travaux précédents, et après avoir pris en compte l'influence des différents paramètres tels que la dose de l'urée, la masse de la levure à ajouter, la concentration des sucres, le pH et la température, on a pu approcher à notre sens les conditions optimales pour avoir un bon rendement en alcool .

Nous avons obtenu dans le présent travail expérimental un bioéthanol de bonne qualité (volatil, inflammable, limpide et possédant une odeur piquante). Le rendement obtenu est de 13,5 %, il est supérieur à celui obtenu dans d'autres travaux, il est de 11 %.

La présente étude a porté sur la valorisation de la mélasse, et nous a permis de conduire une bonne fermentation avec une bonne productivité en éthanol, en exploitant les meilleures variations du système microorganisme/substrats et sa capacité à fermenter le glucose en éthanol.

L'objectif principal de cette étude :

- Peut avoir un impact positif sur le plan économique et environnemental.
- Peut constituer un débouché valorisant à la mélasse présente au niveau de l'industrie BERRAHAL à Mostaganem (production annuel de 1500 tonnes).
- Permet de participer à la mise en œuvre des actions de maîtrise de l'énergie et d'initier toute action liée à la lutte contre les changements climatiques et de contribuer à la réduction des gaz à effet de serre.

De nombreuses perspectives découlent de ce projet, une étude plus approfondie des caractéristiques physicochimiques et biologiques de la mélasse de canne à sucre peut avoir lieu, ainsi qu'une autre étude avec l'utilisation d'une autre souche de *Saccharomyces cerevisiae* plus compétente que la levure boulangère, à titre d'exemple : la levure de bière, et tout cela pour essayer de contribuer au développement des énergies renouvelables en Algérie, et à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable.

Références Bibliographiques

- Alazard-Toux N. Ballerini D.,(2012). *Répondre aux défis énergétiques et environnementaux des transports*. 416 p.
- Aldiguiet A. S. Alfenore S. Cameleyre X. Goma G. Uribelarrea J. L. Guillouet S.E. et Molina-Jouve C., (2004), Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behavior in ethanol bio-fuel production, *Bioprocess Biosyst. Eng.* 26 p. 217-222
- Abdel Moneim E.S., Mohammed Abdalbasit A.G., Elamin A.E. *Production of Ethanol From Sugar Cane Molasses and Evaluation of Its Quality*. *Journal of Food Processing & Technology*. Volume 3, Issue 7, 2012 , 1-3.
- Adeline M. (2018, 13 novembre). *L'énergie biomasse : définition, fonctionnement et chiffres clés*. Consulté sur <https://total.direct-energie.com>
- Akbi A., 2013. Les implications du développement des biocarburants. Thèse de doctorat, Ecole doctorale 513 Droit Et Sciences Politiques, Économiques et de Gestion Nice, paris, 229 pages.
- Aldiguiet A.S .Alfenore S . cameleyer X. Goma G. Uribelrrea J.L, Guilouer S.Eand Molina-Jouve C.,(2004);Synergistic temperature and ethanol effete on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behavior in ethanol bio-fuel production *bioprocess biosyst Eng*; 26:217-222
- Alguilera F. Peinado R. A .Millan C .Ortega J .M and Mauricio J .C., (2006) ;Relationship between ethanol tolerance (+)-ATPase activity and lipid composition of the plasma membrane in different win yeast strains ;*Int J food Microbiol*:110-34.42
- Bai, F., Anderson, W., Moo-Young, M., 2008. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnol. Adv.* 26(1), 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 »*,1er édition, presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne.
- Bayrakci A. Kaçar G., 2014. Second-generation of bioethanol production from water hyacinth and duckweed in Izmir. *Study renewable and Sustainable Energy Reviews*, N°30, 306-316 pages.
- Benaouida K., (2008).étude de l'alpha amylase de levures isolées d'un écosystème extrême (sol environnant des sources thermales) et cultivées dans un milieu à base de lactosérum. Mémoire de magistère. Université mentouri Constantine. Algérie, 104 pages
- Benjamin A. *Représentation graphique des données des tables alcoométriques internationales*. Consulté sur <https://fr.wikipedia.org>
- *Molécule d'éthanol*. Consulté sur <https://publicdomainvectors.org>

- Benyahia liela. Benchikh kahina.,(2017). Valorisation de la mélasse de cevital pour production d'un biocarburant bioéthanol.
- Bounoua F.(2017). Production de bioéthanol à partir des déchets de l'industrie de transformation de pomme de terre . Chimie et environnement,22 .
- 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, eds. (Wiley-VCH Verlag GmbH), pp. 166–220.
- Brandberg T. Lena G. 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 I.,Owende,P.Biofuel from microalgae. *A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*,2010, 14(2):217-232
- Demeyer A. Jacob F. Jay M. Menguy G Perrier J. La conversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies. Edition Technique & Documentation, Paris, pp.187-212 (1982).
- Devarapalli M., Atiyeh H.K. A review of conversion processes for bioethanol production with a focus on syngas fermentation. *Biofuel Research Journal* 7 (2015) 268-280. DOI: 10.18331/BRJ2015.2.3.
- Diego R. (2007). *The Iturin and Fengycin Families of Lipopeptides Are Key Factors in Antagonism of Bacillus subtilis Toward Podosphaera fusca*.
- Dinhill O. (2017). *Biocarburants : DowDuPont veut se désengager de son usine d'éthanol cellulosique*. Consulté sur <http://www.formule-verte.com>.
- Distillation. (2019, août 21). Wikipédia, l'encyclopédie libre. Consulté sur <http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Distillation&oldid=162000141>.
- Ducamp C. et Espinasse G. *Dosage des sucres réducteurs : Méthode de FEHLING*. Consulté sur <http://sites.ensfea.fr>
- EUBIA - European Biomass Industry Association. *Production et Utilisation du Bioéthanol*. Consulté sur <https://www.eubia.org>
- Fritsche W., (1972). The Yeasts, Vol. 2. Physiology and Biochemistry of Yeasts. *Z. Für Allg. Mikrobiol.* 12, 349–34
- Grisales Palacio V.H. Modélisation et commande floues de type Takagi-Sugeno appliquées à un bioprocédé de traitement des eaux usées. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, France, (2007).
- Guinet R .Godon B.(1994) ;La panification Française Ed. Tec & Doc.-521 p.

- Haichour N. (2017). *Métabolisme anaérobie du pyruvate*. Consulté sur <http://cte.univ-setif.dz>
- Hesclot I. Vladescu B., (1994) ; La levure dans les industries alimentaires Ed. Tec & Doc, Lavoisier, 1994.-56 p.
- John W., Abdul,A., Philip. Differential behaviour of the dinitrosalicylic acid (DNS) reagent towards mono- and di-saccharide sugars. *BIOMASS AND BIOENERGY* 35 (2011) 4748-4750.
- John Wiley & Sons (2001). *Current protocols in Food Analytical Chemistry*. Consulté sur <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com>.
- Jules L. (2014). *Comment bien préparer un levurage ?*. Consulté sur <https://www.winemaking.com>.
- Käppeli O. & Sonnleitner B. (1986). Regulation of sugar metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*-type yeast: experimental and conceptual considerations. *Critical Reviews in Biotechnology*, 4(3), 299–325.
- Kara Ali M., (2014). Isolement et caractérisation de souches levurienne des milieux arides productrices de l'éthanol sur différents substrats. Thèse de doctorat, Université Constantine 1, Algérie. 129 pages.
- Larpent J.-P. (1991). *Biotechnologie des levures*: Masson.
- Larpent J. P. Gourgoud M., (1985). *Elément de microbiologie*. Ed. Herman. Paris, 464p.
- Leveau J.Y. et Bouix M. (1993). *Microbiologie industrielle: les microorganismes d'intérêt industriel*. Ed Tech et Doc – Lavoisier, Paris. 612 p. ☐
- Leyral G. et Vierling É., (2007). *Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires*. 4ème édition, Doin, pp 20-36.
- Limtong. Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated *Kluyveromyces marxianus* . Volume 98, Issue 17, December 2007, Pages 3367-3374.
- LLUCS. Informations analyses : Levures. Consulté sur <http://www.llucs.lu>
- Lothair D.(2014). De la vigne au vin. Consulté sur <https://www.slideplayer.fr>
- Manyri L. Analyse automatique d'images de populations microbiennes. Thèse de Doctorat, Institut National des sciences Appliquées de Toulouse, France, (2005)
- Maréchale P.A . Martinez Poirier I. et Gervais P., (1999). The importance of the Kinetics of application of physical stresses on the viability of microorganism: significance for minimal food processing. *Trends in food science and technology*; 10:15-20
- Mokrane-Soualah S .(2014). *Produits chimiques organiques : Synthèse et utilisations*.
- Mounir M. Shafiei R. Zarmehrkorshid R. Hamouda A. Delvigne F. Ismaili Alaoui M (2016). Optimization of biomass production of *Acetobacter pasteurianus* KU710511 as a potential starter for fruit vinegar production. *African Journal of Biotechnology* 15:1429- 1441.

- Mousli M.(2017). *Optimisation par le model Box-Behnken de la production du bioéthanol à partir d'une variété de datte algérienne à faible valeur marchande*. Science Alimentaire,5-7.
- Mussatto S., Giuliano, D. João, P. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. *Biotechnology advances*,2010, 28(6):817-30
- « New bioenergy roadmap guide released jointly by IEA and FAO » [archive], sur *Agence internationale de l'énergie* (consulté le 1^{er} février 2017).
- Ngutyen Thanh D., (2016) .protection de la levure *Saccharomyces cerevisiae* par un système biopolymérique multicouche : effets sur son activité métabolique en réponse aux condition de l'environnement.Doctorat de l'université de bourgogne agrosupdijon p : 8-10.
- Pancart. (2013). *Fermentation alcoolique* .Consulté sur <https://commons.wikimedia.org>
- Patricia T., (2011). *Besoins en azote des micro-organismes œnologiques*. Consulter sur <https://www.vignevin-occitanie.com> .
- Pillet O. (2015). *La gestion de l'azote assimilable pendant les fermentations* . Consulté sur <https://www.winemak-in.com>.
- *Quels sont les cinq types d'énergies renouvelables ?*. Consulté sur <https://www.futura-sciences.com>
- 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.
- R.M. Patel A.J. Desai ; *Biosurfactant production by Pseudomonas aeruginosa GS3 from molasses*, online: 2003/10/31 ; Letters in Applied Microbiology ; Volume 25, pages 91-94
- Rathmann, R., Szklo, A., Schaeffer, R., 2010. Land use competition for production of food and liquid biofuels: An analysis of the arguments in the current debate. *Renew. Energy*. 35(1), 14-22.
- Regnault IP., (1990) ; Microbiologie générale - Vol. Ed. Vigot -859 p.
- Revuz B., (1979). Microbiologie et industrie alimentaire (culture de la levure sur mélasse). (Ed) Lavoisier. Paris, pp 113-120.
- Riess J.,(2012).intensification de la brique « fermentation alcoolique »des substratsbetteraviers et autre substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat,Université de Toulouse. France ,177pages.
- Rose A.H., (1980). Recent research on industrially important strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biol. Act. Yeast* p. 103, Academic Press.
- Russell I., (2003). "Understanding yeast fundamentals," in "The AlcoholText Book 4th Edition,"NottinghamUniversityPress, K. A. Jacques, T. P. Lyons and D. R. Kelsall: 85-119.
- Ryu D.D. Kim Y.J. Kim J.H. (1984). Effect of air supplement on the performance of continuous ethanol fermentation system. *Biotechnonogy and Bioengineering*, 26(1), 12-16.

- S. Tanishoa et Y. Ishiwataa ; *Continuous hydrogen production from molasses by the bacterium Enterobacter aerogenes*; International Journal of Hydrogen Energy ; Volume 19, Issue 10, October 1994, Pages 807-812 [archive].
- Scriban R., (1988) ; Les Industries Agricoles Alimentaires Ed. Tec & Doc, 1988.-382 p.
- Scriban R., (1999). Biotechnologie. 5ème Edition. Lavoisier- Tec & Doc, Paris.
- Sims, R., Taylor, M., Saddler, J., Mabee, W., 2008. From 1st-to 2nd-generation biofuel technologies: An overview of current industry and RD&D activities, International Energy
- Sylvie R. (2018).L'importance des champignons pour l'Homme : intérêts, dangers et perspectives. Consulté sur <https://www.researchgate.net>.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference (2018, 1 Avril). *Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de mélasse*. Consulté sur <https://ndb.nal.usda.gov>
- Vitolo M. "Production of ethanol and invertase by *S. cerevisiae* grown in blackstrapmolasses," in Proceedings of the 7th Biomass for Energy and the Environment, pp. 1477-1481,PergamonPress, Copenhagen, Denmark, 1996.
- Vladescu B.,(1994) ; La levure dans les industries alimentaires Ed. Tec & Doc, Lavoisier.- 56 p.
- Wang D.I. Cooney C.L. Demain, A.L. Dunnill P. Humphrey A. Lilly M. (1979). Fermentation and enzyme technology. Wiley interscience publication, New York.

Annexes

Tableau des masse volumiques des liquides hydroalcooliques (Benjamin A., 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									



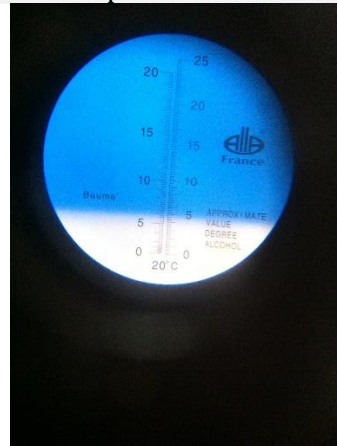
Moût pour fermentation



Moût après fermentation



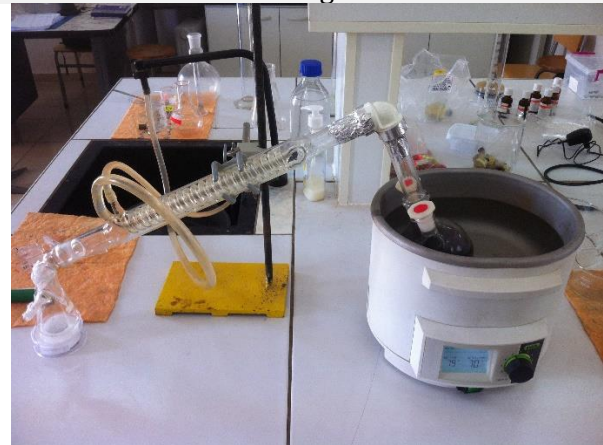
Relève de la densité



Relève du degré Baumé



Dosage des sucres après fermentation



Montage pour distillation simple



Echantillons pour test colorimétrique



Echantillons dilués pour test colorimétrique

Résumé

L'objectif de ce projet avait pour but de produire de l'éthanol à partir de la mélasse de canne à sucre via la fermentation alcoolique. Des dosages physiques et chimiques ont été effectués en vue d'évaluer la qualité de la mélasse et sa teneur en sucres. Des tests de fermentation ont été mis en œuvre aussi afin d'obtenir un bon rendement en éthanol. Le premier ainsi que le deuxième avaient pour but, de voir l'effet de l'absence de l'urée et la détermination de la dose optimale pour le besoin en urée, pour cela, différentes quantités de cette dernière ont été ajoutées au moût à un pourcentage de 30%, 50% et 100% par rapport à la quantité de la levure. Le troisième consistait à définir le taux optimal de la quantité de levure boulangère à ajouter, entre 0,71%, 1,42% et 2,84% par rapport à la quantité de sucres présents dans le moût. Quant au dernier test, son but était d'essayer de trouver la meilleure concentration de sucre entre 10, 20, 25 et 30 % du volume total du moût de fermentation. Le pH a été ajusté à 4.8 en utilisant de l'acide sulfurique 96% et la fermentation a été conduite pendant 72h à une température de 30 °C.

Les résultats expérimentaux de la production d'éthanol à partir de la mélasse ont donné un meilleur rendement en éthanol, en particulier, lorsque l'urée était à une concentration de 50% par rapport au poids de la levure, cette dernière, à un pourcentage de 1,42% de la quantité de sucres présents dans le moût, tandis que pour la quantité de sucres, la dose optimale correspondait à une concentration de 25 % du volume total du moût, le tout a donné un rendement en éthanol de 13,5 %.

Mot clés : Mélasse, Bioéthanol, Canne à sucre, Urée, Levure (*Saccharomyces cerevisiae*), Dosage physico-chimique, Moût de fermentation, Fermentation alcoolique.

Abstract

The objective of this project was about producing ethanol from cane molasses by alcoholic fermentation. Physical and chemical analysis were performed in order to evaluate the quality of molasses and its sugar content. Fermentation tests were also implemented to obtain a good yield of ethanol. The first as well as the second were used to see the effect of the absence of urea and the determination of the optimal dose for the urea requirement, for this, different amounts of urea were added to the must at a percentage of 30%, 50% and 100% in relation to the amount of yeast. The third consisted in defining the optimal quantity of baker's yeast to be added, between 0.71%, 1.42% and 2.84% relative to the quantity of sugars present in the must. As for the last test, its goal was to try to find the best sugar concentration between 10, 20, 25 and 30% of the total volume of the fermentation must. The pH was adjusted to 4.8 using 96% sulfuric acid and the fermentation was conducted for 72 hours at a temperature of 30 °C.

The study indicated that the best yield of ethanol is 13.5% which can be obtained when the must of fermentation includes 50% of urea, 1.42% of baker's yeast, 25% of sugar concentration.

The key words : Molasses, Ethanol, Sugar cane, Urea, Baker's yeast, Alcoholic fermentation