REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRMINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE YAHI FARES DE MEDEA
FACULTE DE TECHNOLOGIE

Mémoire de fin d'études de Master
Filière: Génie des procédés pharmaceutiques
Spécialité: Génie des procédés pharmaceutiques

VALORISATION DES EPLUCHURES DE POMMES DE TERRE DANS LA PRODUCTION DE BIOETHANOL PAR FERMENTATION ALCOOLIQUE

Présenté par:

- **REGHMIT HADDA**
- **BOUGHAZI NARIMAN**

Devant le jury :

- **Dr. SEFHA Farida : Présidente.**
- **Dr. ARBIA Wassila : Examinatrice.**
- **Dr. TASSIST Amina : Promotrice.**

2022-2023

REMERCIEMENTS

Nous tiendrons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donner la force etla volonté d'accomplir ce travail.

Ce travail de recherche a été effectué au sein des laboratoires de la faculté de technologie, département de Génie des procédéset de l'environnement, à l'université de Médéa sous la direction du **Dr. TASSIST AMINA.**

Tout d'abord, nous adressons nos vifs et sincères remerciements à notre encadreur**Dr.TASSIST AMINA**qui nous a beaucoup soutenus avec son expérience et sesConseils, et surtout pour avoir fait preuve de patience. Nous la remercions aussi pour son dévouement, son engagement et pour sa confiance durant toute cette période de formation, elle nous a initié aux premiers pas de la recherche, vraiment merci.

Nous remercions également **Dr. SAFHA Farida** pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant le jury de ce mémoire.

Nous remercions aussi **Dr. ARBIA Wassila** d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous remercions **le directeur du Hall technologique** de mettre à notredispositionlesmoyens et les produits nécessaires pour accomplir ce travail.

Nous remercions tous les administrateurs et les enseignants du département deGénie desprocédés de l'université de Médéa.

Enfin à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à notre formation.

DIDICASE

Je Remercie tout d'abord ***ALLAH*** *de m'avoir aidé à réaliser ce travail*

Je dédie ce modeste travail à mes très ***chers parents (Rabia, Ali)***

A mes frères et mes sœurs ***(NOURA, Kamel, Amel, Nawal, Amin, Roumaissa)***

Aux enfants de ma sœur ***(Riyad, salsabil)***

A tout ma famille

A mon binôme : ***Nariman***

Et tous mes Amis

A l'équipe de pharmacien ***BOULAFRAD. N (*** **HAFIDA, Youssef, Soufyan)**

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

HADDA

DIDICASE

Je dédie cet humble travail avec amour, sincérité et fierté, à :

Mes chers parents ma mère ***Fadila*** *et mon père* ***said*** *pour leur confiance, sacrifices et efforts.*

Mes chères sœurs : ***Hafida, Ilham****, ma petite nièce* ***Ratil*** *pour leur compréhension et encouragement et mon frère* ***Mouhamed.***

La famille ***BOUGHAZI.***

Ma chère personne ***(Y)****.*

Mes chères amies ***Afrah, Houda*** *…… ect, pour tous les moments que nous avons partagé durant les années d'étude et amitié.*

A mon binôme ***: Hadda***

Tous les étudiants de la spécialité Génie des procédés Pharmaceutiques (GPP), Master2 « promotions 2022/2023 ».

NARIMAN

ملخص

.يدرس هذا العمل إنتاج الإيثانول الحيوي من نشا قشور البطاطس الطازجة .يمر هذا الإنتاج بمعالجة حرارية مسبقة (عند 130 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة) متبوعة بالطحن ثم التسييل الإنزيمي بواسطة ألفا أميلاز، والتسكير بواسطة جلوكوأميلاز والتخمير باستخدام خميرة الخبز. تتم عملية التسييل بواسطة ألفا أميلاز في ساعتين عند 55 درجة مئوية، ودرجة الحموضة = 6، ونسبة الانزيم / النشا= **CEIP300** /جم أيا كان تركيز قشور البطاطس (**50، 100، 200)جم/100ml** .نتج عن التسكر (عند الرقم الهيدروجيني = 4 ، إلى 50 درجة مئوية ، لمدة 3 ساعات) إنتاجية 99% للنسبة **1,16جم** جلوكوأميلاز / جم من النشا المسال .أدى التخمير (درجة حرارة المحيط، درجة الحموضة = 5) إلى معدل أقصى للإيثانول **97,42جم / لتر** مع إنتاج **0,6جم إيثانول/جم جلوكوز**. أخيرًا، يتم تحليل الإيثانول المستعاد للتصديق على هويته وامتثاله لبعض الاختبارات. يظهر المجموع الكلي أن طنًا واحدًا من القشور ينتج **61.5 لترًا** من الإيثانول.

الكلمات المفتاحية :الإيثانول الحيوي، قشور البطاطس، التسييل، التسكير، التخمير، خميرة الخبز

Résumé :
Le présent travail, étudie la production du bioéthanol à partir de l'amidon des épluchures de pomme de terre fraiche. Cette production passe par un prétraitement thermique (à 130°C pendant 15min) suivi d'un broyage puis une liquéfaction enzymatique par l'alpha amylase, une saccharification par la glucoamylase et une fermentation à l'aide de *Saccharomyces cerevisiae.* La liquéfaction par alpha-amylase s'effectue en 2h à 55°C, un pH=6, un rapport **E/S= 300CEIP/ g** d'amidon équivalent à **18 CEIP/g MF** quel que soit la charge **(50, 100, 200g MF/100ml).** La Saccharification (à **pH=4, T°=50°C**, durant **3h**) a abouti à un rendement moyen de 99% pour un rapport de **1,16 g de glucoamylase /g** d'amidon liquéfié **(0,07g/g MF liquéfiée)**. La fermentation (**T° ambiante**, **pH =5**) a abouti à un taux maximal d'éthanol de **97,42g/l** avec un rendement de **0,6g d'éthanol /g glucose.** Finalement, l'éthanol récupéré est analysé certifiant son identité et sa conformité à quelques tests. Le bilan global montre qu'une tonned'épluchures produit **61,5 litres** d'éthanol.

Les mots clés : Bioéthanol, Epluchures de Pomme de terre, Liquéfaction, Saccharification, Fermentation, *Saccharomyces cerevisiae.*

Abstract :
This work studies the production of bioethanol from the starch of fresh potato peelings. This production goes through a thermal pre-treatment (at **130°C** for **15min**) followed by grinding then enzymatic liquefaction by alpha amylase, saccharification by glucoamylase and fermentation using *Saccharomyces cerevisiae*. Liquefaction by alpha-amylase is carried out in 2 hours at **55°C**, a **pH=6**, an E/**S=300 CEIP/g** of starch equivalent to **18 CEIP/g MF** whatever the load **(50, 100, 200g MF/100ml)**. Saccharification (at **pH=4, To 50° C**., for **3 h**) resulted in yields of 99% for the ratio of 1,6 g-glucoamylase/g-liquefied starch **(0,07 g/g liquefied MF).** The fermentation (ambient T°, pH=5) resulted in a maximum rate of ethanol **(97,42g/l)** with a yield of **0,6 g-ethanol/g-glucose**. Finally, the recovered ethanol is analyzed to certify its identity and its compliance with a few tests. In conclusion, one ton of peelings produces **61.5 liters** of ethanol.

The key words: Bioethanol, Potato peelings, Liquefaction, Saccharification, Fermentation, *Saccharomyces cerevisiae.*

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Sommaire **1**

Liste des abreviations **4**

Liste des tableaux **5**

Liste des figures **6**

Introduction Générale : **9**

PARTIE BIBLIOGRAHIQUE **11**

I. Généralités sur les déchets: **12**

I.1. Définition desdéchets : **12**

I.2. Définition des déchets ménagers et assimilés: 12

I.3: Définition des déchets industriels : 12

I.4. Gestion des déchets ménagers et assimilés en Algérie : 13

II. Généralités sur Les Biocarburant : **13**

II. 1. Définition : 13

II.2. Les types de biocarburants : 13

II.2.1. Les biogaz **13**

II.2.2. Le bioéthanol **14**

II.2.3. Le biodiesel (biogazol) **14**

II.2.4. La bio-huile (bio-oïl) **14**

II.3. Génération de biocarburants : 15

II. 3.1. Les biocarburants de première génération 15

II.3.2. Les biocarburants de deuxième génération 15

II.3.3. Les biocarburants de troisième génération 16

II.4. Les voies de production des biocarburants de seconde génération 16

II.4.1. La voie biochimique : **16**

II.4.2. La voie thermochimique : **16**

II.5. Avantages et inconvénients des biocarburants : 17

III. Production de bioéthanol par fermentation alcoolique **18**

III.1. Bioéthanol :.....18
III.1.1. Définition :.....**18**
III.1.2. Propriétés physiques :.....**18**
III.1.3. Propriétés chimiques :.....**19**
III.1.4. Avantages et inconvénients du bioéthanol.....**19**
III.1.5. Utilisation de bioéthanol.....**20**
- Les applications industrielles :.....20
- Les carburants.....21
III.1.6. La pomme de terre.....**21**
III.1.7. Composition chimique du tubercule de la pomme de terre.....**21**
III.1.8. Amidon de la pomme de terre :.....**22**
III.1.9. Composition chimique de l'amidon.....**22**
A. Amylose.....23
B. Amylopectine.....23
III.1. 10. Propriétés hydro-thermiques de l'amidon :.....**24**
III.1.11. Hydrolyse enzymatique de l'amidon :.....**25**
III.2: Saccharomyces cerevisiae :.....26
III.2.1: Définition :.....**26**
III .2.2: La fermentation alcoolique :.....**27**
III.2.3: Facteurs influençant la fermentation :.....**28**
A. Effet de la température :.....28
B. Effet de la concentration en sucres :.....28
C. Effet du pH :.....28
D. Effet de la durée de fermentation :.....29
E. Effet de l'agitation :.....29
III.2.4. Métabolisme général de Scerevisiae :.....**29**
A. Classification métabolique :.....29
B. Métabolisme oxydatif :.....30
C. Métabolisme respiro-fermentaire :.....31
D. Métabolisme fermentaire :.....32
PARTIE EXPERIMENTALE.....33
I-Matériels :.....**34**
I.1 Verreries et petit matériel :.....34
I.2 Réactifs, produits et solutions :.....34
I.3 Equipements.....35

I.4 Matériel biologique : 35

II. Méthodes, Résultat et Discussion : **35**

II.1 Caractérisation d'épluchure de pomme de terre : 35

II-2 Calcul de l'activité alpha-amylase : 37

II.3 Production de Bioéthanol à partir des épluchures de la pomme de terre : 42

II.3.1 Liquéfaction : **42**

II.3.1.1 Historique : 42

II.3.1.2 Récoltes des épluchures et traitement physique : 43

II.3.1.3 Liquéfaction des broyats : 43

II.3.2. Saccharification : **46**

II. 3.2.1 Détermination du rapport E/S : 46

II.3.2.2 Saccharification avec le rapport E/S optimal : 48

II.3.3. Fermentation et séparation de l'éthanol : **50**

II.3.3.1. La fermentation : 50

II.3.3.2. Séparation du produit- Méthode : 53

II.4 Analyse de l'éthanol récupéré : 57

II.4.1. Tests d'identification : **58**

II.4.1.1. Le test au dichromate de potassium : 58

II.4.1.2. Le Flambage : 59

II.4.1.3. Test d'identification B (selon USP) 59

II.4.1.4. Le spectre Infrarouge : 60

II.4.2. Tests de qualité : **61**

II.4.2.1. Absorbance dans le domaine ultra-violet 61

II.4.2.2 Test de l'Acidité (selon USP) : 62

II.4.2.3. Test de sensibilité bactérienne au distillat : 63

Conclusion générale 66

Références bibliographiques 69

ANNEXES 70

Liste des abréviations

A	Alpha
β	Beta
C	Carbone
CEIP	Cendre d'évaluation et d'information de la pharmacodépendance
C_0	Concentration initiale
[ ]	Concentration
K_m	Constante de Michaelis
°C	Degré Celsius
h	Heure
H	Hydrogène
IR	Indice de réfraction
m	La masse
MF	Matière fraiche
min	Minute
µm	Micro-mètre
OP	Optimale
O	Oxygène
pH	Potentiel d'hydrogène
R	Rendement
SC	Saccharomyces cerevisiae
S	Substrat
T	Température
V_{max}	Vitesse maximale
V	Volume
λ	La longueur d'onde
DO	La densité optique

Liste des tableaux

Tableau I-1	Avantages et inconvénients des biocarburants	**18**
Tableau I-2	Propriétés physiques de l'éthanol	**20**
Tableau I-3	Avantages et les inconvénients du bioéthanol	**21**
Tableau I-4	Plage de gélatinisation de l'amidon en fonction de son origine	**26**
Tableau I-5	Propriétés de quelques alpha amylases	**27**
Tableau II-1	Paramètres cinétiques tirés à partir des linéarisations de lineweaver-burk et EadieHofstee : Comparaison avec ceux tirés à partir de la courbe de saturation	**42**
Tableau II-2	Bilan de distillation de l'éthanol avec calcul du rendement (Essai 1)	**55**
Tableau II-3	Bilan de distillation de l'éthanol avec calcul du rendement (Essai 2)	**55**
Tableau II-4	Données relatives aux distillats obtenus pour la fermentation des trois charges d'épluchures de pommes de terre	**56**
Tableau II-5	Données relatives au distillat global	**58**
Tableau I-6	Normes des absorbances dans le domaine de l'UV de l'éthanol (96% v/v) (92,6 % m/m) selon USP	**62**
Tableau I-7	Absorbances dans le domaine de l'UV obtenus pour le distillat	**63**

Liste des figures

Figure I-1	Structure de la molécule d'éthanol	**19**
Figure I-2	Composition chimique de la pomme de terre	**23**
Figure I-3	Structure chimique de l'amylose	**24**
Figure I-4	Structure chimique de l'amylopectine	**25**
Figure I-5	Saccharomyces cerevisiae	**28**
Figure I-6	Chaine respiratoire chez la levure	**32**
Figure II-1	Composition des épluchures de la pomme de terre	**37**
Figure II-2	Cinétique de dégradation de l'amidon par la BAN α-amylase à pH6, T°=55°C.	**39**
Figure II-3	Courbe de saturation : Evolution la vitesse initiale (Vi) del'alpha-amylase en fonction de la concentration initiale en amidon.	**40**
Figure II-4	Représentation graphique de la linéarisation de lineweaver-burk	**41**
Figure II-5	Représentation graphique de la linéarisation d'EadieHofstee	**41**
Figure II-6	Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/l dispersées à 130°C	**46**
Figure II-7	Saccharification des épluchures de pomme de terre (50g MF/100ml), traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en variant la concentration de la glucoamylase.	**48**
Figure II-8	Rendement de saccharification des épluchures de pomme de terre (50g MF/100ml), dispersées et liquéfiées en variant la concentration de la glucoamylase	**49**
Figure II-9	Saccharification des épluchures de pomme de terre (100g MF/100ml, 200g MF/100ml) traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en utilisant de la glucoamylase au rapport E/S optimal	**50**
Figure II-10	Concentrations finales en glucose et rendements de saccharification obtenus pour les différentes charges (50g MF/100ml, 100g MF/100ml, 200g MF/100ml).	**51**
Figure II-11	Evolution des différents paramètres mesurés (S, pH et X) durant la fermentation des charges (50g, 100g, 200g) MF/100ml liquéfiées et saccharifiées	**53**

Figure II-12	Montage de distillation	**54**
Figure II-13	Résultat de la révélation de l'éthanol dans le distillat global au bichromate de potassium.	**59**
Figure II-14	Résultat du flambage du distillat	**60**
Figure II-15	Résultat du test d'identification B	**60**
Figure II-16	Spectre infrarouge du distillat	**61**
Figure II-17	Spectre Infrarouge d'un éthanol (96%).	**62**
Figure II-18	Résultat de Test de l'Acidité	**64**
Figure II-19	Résultat test de la sensibilité de *S aureus* vis-à-vis du distillat	**64**

INTRODUCTION

Introduction Générale :

Les ressources énergétiques renouvelables (biomasse, éolienne, solaire, hydraulique…) permettraient de produire une partie de l'énergie qui nous est nécessaire tout en contribuant à la diminution des émissions de CO2. La biomasse, terme regroupant l'ensemble des composés organiques d'origine non fossile, est prometteuse pour la production d'énergie. En effet, il s'agit d'une ressource naturellement abondante et qualifiée de « neutre en CO2 » ce qui présente l'avantage de les valoriser.

Les déchets des issus de l'agriculture et des industries agroalimentaires offre aussi cette opportunité. Ces derniers attirent l'attention sur la production d'éthanol en raison de leur abondance, de leur disponibilité, de leur biodégradabilité, de leur richesse en carbone et de leur contenu nutritif, et aussi pour gérer les problèmes de déchets de l'industrie sur le plan économique et environnemental **[1].**

La pomme de terre représente la première culture maraîchère en Algérie du point de vue superficie et production ce qui engendre de grandes quantités de déchets, également, riche en amidon et source importante de production du bioéthanol. Ces déchets proviennent de l'agriculture, de la consommation humaine et animale mais aussi de l'industrie de transformation de la pomme de terre.

Le bioéthanol peut être produit à partir de sources de biomasse, compris les résidus agricoles et forestiers, les vieux papiers et autres divers flux de déchets industriels, et finalement les cultures ligneuses et herbacées cultivées sur des terres sous-utilisées pour soutenir la production de bioéthanol à grande échelle. Une fois ajouté à l'essence, l'éthanol améliore la combustion du carburant, réduisant ainsi les émissions d'échappement de CO et des hydrocarbures non brûlés. Le bioéthanol a un pouvoir calorifique de 35 à 40% par rapport à l'essence et une teneur en oxygène plus élevée de 35% ce qui rend la combustion plus propre et entraîne une faible émission des substances toxiques. Le bioéthanol contribue à la réduction des émissions de CO2 jusqu'à 80% par rapport à l'utilisation de l'essence, favorisant ainsi un environnement plus propre pour l'avenir [**2].**

L'objectif de ce travail est de produire le bioéthanol à partir des épluchures de pommes de terre comme biomasse par fermentation alcoolique en utilisant *Saccharomyces cerevisiae* comme microorganisme producteur.

La partie expérimentale passe par les étapes suivantes :

- Une première étape de prétraitement physique de la matière première (traitement thermique suivi d'un broyage).
-Une deuxième étape de traitement enzymatique en utilisant une α-amylase pour la liquéfaction et la glucoamylase pour la saccharification.
-Une 3ème étape de fermentation alcoolique en utilisant *Saccharomyces cerevisiae*.
-Une dernière étape de récupération du produit par distillation.

Le produit récupéré subit des analyses qualitatives afin de prouver son identité et des analyses quantitatives afin de calculer les concentrations finales en éthanol, les rendements des fermentations, les quantités produites par charge de matière première ainsi que la productivité annuelle dans les conditions optimales.

La première partie de ce mémoire présente la synthèse bibliographe qui s'intéresse à la gestion des déchets en Algérie, aux biocarburants, et à la production de bioéthanol par fermentation alcoolique. La seconde partie est une étude expérimentale consacrée à la présentation du matériel, des méthodes expérimentales et des techniques analytiques utilisées dans ce travail avec interprétation et discussion des résultats obtenus. Le travail est finalisé par une conclusion résumant les principaux résultats et les perspectives proposées dans le but de développer le sujet ultérieurement

PARTIE BIBLIOGRAHIQUE

I. Généralités sur les déchets:

I.1. Définition desdéchets :

Selon le Code de l'Environnement (Art. L541-1-1), un déchet est défini comme étant « toutesubstance ou tout objet, ou plus généralement tout bien meuble, dont le détenteur se défait oudont il a l'intention ou l'obligation de se défaire ». Derrière cette définition très générale setrouvent des déchets très variés, répartis suivant différentes classifications qui se superposent, en fonction de leur provenance, de leur dangerosité et du type de risque qu'ilsreprésentent **[3].**

Selon leur provenance, on distingue les déchets :

- des ménages ;
- des collectivités locales;
- des industries.

I.2. Définition des déchets ménagers et assimilés:

Dans la loi du 15 juillet 1975, un déchet est défini comme « tout résidu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, toute substance, matériau, produit ou plus généralement tout bien nuisible abandonné ou que son détenteur destine à l'abandon ». Le terme de Déchets Ménagers et Assimilés (DMA) englobe les Ordures Ménagères (OM) qui sont issues de l'activité domestique des ménages ainsi que les déchets provenant des industries, artisans, commerçants, écoles, services publics, hôpitaux ou encore les services tertiaires qui sont collectés dans les mêmes conditions que les OM **[4].**

I.3: Définition des déchets industriels :

Tout déchet résultant d'une activité industrielle agroindustrielle, artisanale ou d'une activité similaire. On a 3 types des déchets industriels :

- les déchets industriels inertes (ex : gravats, briques): qui se présentent sous forme solide et sont inertes physiquement, chimiquement et biologiquement. Ils sont réglementairementdéfinis par la directive n° 1999/31/CE relative à la mise en centre d'enfouissement.
- Les déchets industriels banals (DIB), assimilables à des déchets ménagers : déchets d'emballages, chutes et rebuts de fabrication des activités manufacturières.
- les déchets industriels spéciaux (DIS) ou dangereux : déchets susceptibles de causer desnuisances,nécessitantuntraitement particulier **[5].**

On retrouve ces définitions pour le classement des décharges, en trois types **[5]** :

- Classe I : destinée au DIS,
- Classe II : pour les DIB et assimilés,
- Classe III : pour les déchets inertes.

I.4. Gestion des déchets ménagers et assimilés en Algérie :

La croissance démographique, le développement des activités socio-économiques et les mutations du mode de vie et de consommation favorisent grandement la production des déchets en milieu urbain. En 2014, la production de déchets ménagers et assimilés ont avoisiné 11 millions de tonnes. Ce qui nécessite beaucoup d'efforts pour leur prise en charge en matière de traitement et d'élimination finale. A ce jour, la mise en décharge est la destination finale la plus privilégiée pour l'élimination des déchets ménagers et assimilés, car son coût est faible par rapport aux autres filières comme l'incinération ou le compostage. Cet état de fait a provoqué la saturation des décharges existantes et a engendré des problèmes d'hygiène et de salubrité publique, (odeurs nauséabondes problèmes respiratoires allergie, etc.,). Ajouter à cela, le potentiel risque des gaz à effet de serre. Selon les services du ministère des ressources en eau et de l'environnement **[6],** pour la seule année 2000, les décharges ont émis environ 7 542 000 CO_2.

II. Généralités sur Les Biocarburant :

II. 1. Définition :

Les *biocarburants* désignent des combustibles liquides issus de la transformation des matériaux organiques non fossiles provenant de la biomasse (produits ou déchets agricoles, algues et divers végétaux, etc.). Quand la biomasse provient de plantes cultivées, on parlera plus justement d'*agrocarburant* **[7]**.

II.2. Les types de biocarburants:

II.2.1. Les biogaz

Les biogaz peuvent être obtenus soit par méthanisation des déchets organiques, soit par gazéification (craquage thermique) du bois. De même, plusieurs processus naturels entraînent la production du biogaz (digestion des ruminants et décomposition naturelle dans les étendues marécageuses). Cependant, les sources générées par l'activité humaine sont également importantes et, plutôt que de représenter des déchets, elles pourraient être utilisées comme matière première pour produire de l'énergie ; ces sources de biogaz sont les déchets solides des

sites d'enfouissement sanitaire ou technique (dépotoirs) ou encore les boues des stations d'épuration**[8]**.

II.2.2. Le bioéthanol

Le bioéthanol provient de la fermentation alcoolique de sucres simples par des levures ; ces derniers sont obtenus à partir de la biomasse. Les sources de la matière première pour la fabrication du bioéthanol sont :

• Les sucres simples ou amidon hydrolysé (dégradé) provenant de plantes consommables (canne à sucre, maïs, etc.) ; se sont des agro-carburants.

• Les débris végétaux de toute sorte (résidus forestiers, copeaux issus de scieries ou de papeteries, etc.) riches en cellulose (éthanol cellulosique) ; la cellulose peut être hydrolysée en sucre simple fermentable. L'éthanol produit par cette fermentation est combustible et peut être ajouté aux carburants conventionnels.

Les alcools peuvent être utilisés comme additifs pour les carburants et dans d'autres cas, ils sont utilisés comme matière première pour la fabrication d'autres carburants ; dans des moteurs conçus pour cette utilisation. Le taux d'éthanol peut aller jusqu'à 85%, mais un taux plus faible de 5 à 10% est même actuellement ajouté aux carburants des voitures et ce, sans aucune modification nécessaire des moteurs **[9]**.

II.2.3. Le biodiesel (biogazol)

Le biodiesel est un biocarburant destiné à être utilisé dans les moteurs Diesel. Il provient de la conversion de lipides (huiles végétales et graisses animales) en carburant. Les sources de matière première les plus utilisées pour la fabrication du biodiesel sont :

• Les huiles végétales, vierges ou usées ; il s'agit aussi d'un agro-carburant.

• Les huiles extraites d'algues ou de microalgues (algo-carburant).

• Les graisses animales (relativement peu utilisées).

Le biodiesel est très semblable au Diesel conventionnel et peut être utilisé sans modifications majeures des moteurs ; c'est un carburant prometteur qui pollue moins. Actuellement, il est souvent ajouté au Diesel classique dans des pourcentages variables **[10].**

II.2.4. La bio-huile (bio-oïl)

Ce sont les produits liquides issus de la solvolyse ou de la pyrolyse de la biomasse (bois, huiles végétales et graisses animales). La bio-huile est un mélange complexe qui contient une grande variété de composés de différentes classes chimiques, tels les acides carboxyliques, les

esters, les alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les alcènes et les aromatiques. En outre, les bio-huiles sont faciles à stocker et à transporter et peuvent être utilisées comme un biocarburant ou pour la fabrication de produits chimiques de grande valeur **[11, 12]**.

II.3. Génération de biocarburants :

II. 3.1. Les biocarburants de première génération

Ils sont issus des plantes riches en produits oléagineux ou en sucre. Ils comprennent le biodiesel (destiné aux moteurs diesel) produit à partir d'huile végétale (culture énergétique et du recyclage d'huile de friture) ou, plus rarement, de graisse animale et l'éthanol (destiné aux moteurs à "essence") produits à partir de plantes à sucre (canne à sucre et betterave) et d'amylacées (maïs, blé, etc.) **[13].** Leurs technologies de production sont maîtrisées et répandues dans le monde, et particulièrement au Brésil pour l'éthanol. La production de cette catégorie de biocarburants présente trois inconvénients majeurs :

- Bilan environnemental médiocre car elle entraîne d'une part une augmentation de la pollution des eaux par les pesticides utilisés lors de la culture de la matière première et d'autre part la déforestation au profit de la surface agricole.
- Bilan CO2 mauvais si l'impact du changement d'affectation des sols est intégré.
- Compétition directe avec la nourriture provoquant une hausse de prix des denrées alimentaires.

C'est pour ces raisons, que l'Europe a émis une directive visant à limiter à 6% la part de ces biocarburants dans les transports en 2020 **[14]**.

II.3.2. Les biocarburants de deuxième génération

Ils sont produits à partir de la partie non comestible des végétaux ; tels que l'éthanol cellulosique produit à partir de résidus agricoles comme les pailles de céréales, de résidus forestiers…etc. Comparé aux biocarburants de première génération, ces biocarburants présentent les avantages suivants :

- Une production à base de végétaux non comestibles (résidus agricole ou cultures dédiées) et donc dissociée des cultures alimentaires.
- Un meilleur bilan environnemental que les biocarburants de la première génération (consommation en eau et engrais réduite),
- Une disponibilité sur l'ensemble de la planète.

Cependant ces biocarburants sont actuellement très peu développés essentiellement pour des raisons de rentabilité et de maîtrise de la technologie de production. C'est pour cela que l'optimisation des procédés de production de ce type de biocarburant fait l'objet de recherche dans plusieurs laboratoires à travers le monde **[15].**

II.3.3. Les biocarburants de troisième génération

Une 3ème catégorie de biocarburants existe dorénavant, les biocarburants de 3ème génération. Ils sont issus de lipides ou de sucres synthétisés à partir de micro-algues. Leur production est aussi très peu développée. Même si ces procédés sont prometteurs car ils ont des rendements plus importants à l'hectare, ils présentent un inconvénient majeur qui est le coût énergétique élevé lié à leur culture notamment pour le maintien en suspension des algues (culture et de récolte des micro-algues sont très onéreux) **[16][17].**

II.4. Les voies de production des biocarburants de seconde génération

On distingue deux voies de production des biocarburants de 2ème génération **[18]** : la vois biochimique et la voie thermochimique.

II.4.1. La voie biochimique :

Elle permet d'obtenir du bioéthanol : le procédé de seconde génération de bioéthanol comporte les mêmes étapes principales que celui de première génération : une hydrolyse enzymatique des matières premières, suivie d'une fermentation éthanolique des sucres libérés, puis d'une distillation permettant de récupérer le bioéthanol. La différence provient de la nature de la matière première et demande une adaptation des étapes d'hydrolyse et de la fermentation. **[18].**

II.4.2. La voie thermochimique :

La voie thermochimique est composée de deux étapes principales : la gazéification de la biomasse, suivie de la synthèse du carburant à partir du gaz obtenu. Selon le type de synthèse choisi, on peut obtenir différents carburants, gazeux (diméthyléther, méthanol et éthanol) ou liquides (diesel et kérosène). La voie de production du gazole de synthèse de seconde génération ne présente aucune similarité avec la filière de première génération. De plus, le gazole obtenu par les procédés de seconde génération ne présente pas les mêmes propriétés. Son taux de cétanes plus élevé, l'absence de soufre et la faible présence de composés aromatiques lui confèrent une

qualité supérieure (meilleure combustion et moindres émissions de gaz à effet de serre) par rapport au biodiesel de première génération et au diesel fossile**[18].**

II.5. Avantages et inconvénients des biocarburants :

Le **tableauI-1** résume les principaux avantages et inconvénients des biocarburants.

Tableau I-1 : **Avantages et inconvénients des biocarburants[18]**

	Avantages	**Inconvénients**
Approvisionnent énergétique	- Réduction des factures pétrolières. -Diversification et décentralisation des approvisionnements énergétiques.	- Coûts de production et de distribution plus élevés que les hydrocarbures**.**
Agriculture Alimentation	- Maintien/Amélioration des revenus et/ou emplois agricoles	- Pression inflationniste sur le prix des produits agricoles et alimentaires.
Industrie	- Hausse de l'indice d'octane (éthanol) ou de cétane (biodiesel), meilleure viscosité (biodiesel). - Facilité d'utilisation (adaptation plus onéreuse des véhicules et/ou infrastructures au gaz ou à l'électricité)	- Moindre pouvoir calorifique. -Adaptation nécessaire des véhicules, carburants et/ou infrastructures au-delà de certains seuils d'incorporation, notamment (éthanol) pour palier l'instabilité du mélange avec l'eau, la corrosion plus rapide de certains métaux, l'augmentation de la volatilité et des risques associés
Environnement	- Réduction des émissions de GES - Réduction des émissions de CO, HC, particules solides (éthanol, biodiesel), SO_2, benzène, buta- diène, isobutène, toluène, xylène (éthanol), souffre, composés aromatiques (biodiesel) - Valorisation de déchets ou sous-produits : résidus de récolte, déchets forestiers ou municipaux, petit- lait, huiles ou graisses alimentaires...	- Maintien/Accroissement des pollutions par les intrants agricoles, notamment de N_2O par les engrais azotés - Augmentation des émissions de NO, (éthanol, biodiesel), composés organiques volatiles, acetaldehydes. - Augmentation possible des surfaces cultivées au détriment d'autres espaces (forêts, jachères...)

III. Production de bioéthanol par fermentation alcoolique

III.1. Bioéthanol :

III.1.1. Définition :

C'est un alcool de formule brute C_2H_6O, incolore, volatil, inflammable et miscible dans l'eau et aussi dans les solvants organiques **[19],** il est aussi biodégradable, peu toxique et peu polluant en cas de déversement. Il est produit à partir de la fermentation de sucre ou amidon en présence des levures fermentescible, cet alcool peut être distillé et déshydraté pour obtenir un biocarburant**(Figure I-1).**

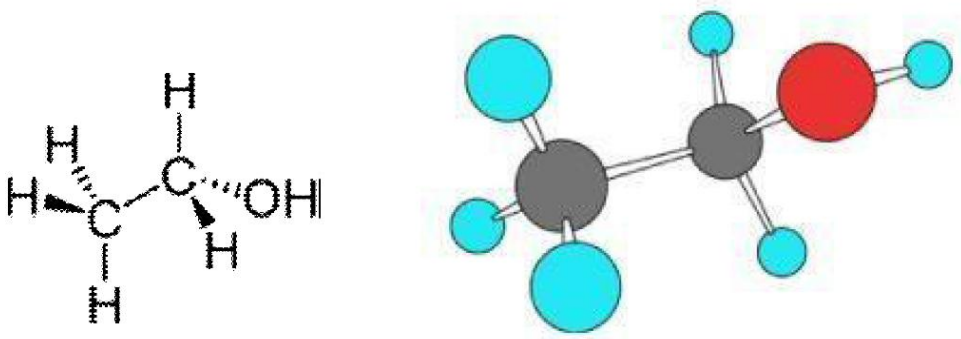


Figure I-1. Structure de la molécule d'éthanol[19].

III.1.2. Propriétés physiques :

L'éthanol est un liquide mobile, incolore, volatil, d'odeur plutôt agréable, décelable dès 84 ppm. IL est miscible à l'eau, le mélange se fait avec dégagement de chaleur et contraction du liquide **[20]**. Par contre il y a expansion du liquide lorsque l'éthanol est mélangé à de l'essence. L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels. C'est un bon solvant des graisses. Le titre d'un mélange eau/éthanol est le rapport entre le volume d'alcool absolu contenu dans ce mélange et le volume de celui-ci à 15 °C ; il est exprimé en % en volume. L'éthanol peut être commercialisé sous forme anhydre (éthanol à 100 % en volume appelé aussi alcool absolu**)** ou à différentes concentrations dans l'eau, principalement à 95 % et, pour des usages antiseptiques, à 70 %. Pour les usages autres qu'alimentaires, des dénaturants sont ajoutés. L'éthanol dénaturé, que l'on trouve également dans le commerce sous le nom d'alcool àbrûler, est de l'éthanol dans lequel on a dissous divers produits pour le rendre impropre à la consommation **[20]**. Le **Tableau I-2** résume quelques propriétés physiques.

Tableau I-2 : Propriétés physiques de l'éthanol[20].

Paramètres	Détails
Masse molaire.	46.07 g/mol
Point de fusion.	- 114°C.
Point d'ébullition.	78-78,5 °C.
Tension de vapeur.	5,9 KPa à 20°C. 10KPa à 30°C. 29,3 KPa à 50°C.
Température auto-inflammation.	423 °C à 425 °C.

III.1.3. Propriétés chimiques :

Dans les conditions normales, l'éthanol est un produit stable. Il possède les propriétés générales des alcools primaires (réactions d'oxydation, déshydrogénation, déshydratation et estérification). Il peut réagir vivement avec les oxydants puissants : acide nitrique, acide perchlorique, les peroxydes, les permanganates et le trioxyde de chrome. La réaction avec les métaux alcalins conduit à la formation d'éthylate et à un dégagement d'hydrogène ; elle peut être brutale sauf si elle est réalisée en l'absence d'air pour éviter la formation de mélanges explosifs air-hydrogène. Le magnésium et l'aluminium peuvent également former des éthylates, la plupart des autres métaux usuels étant insensibles à l'éthanol **[21]**.

III.1.4. Avantages et inconvénients du bioéthanol

Le **Tableau I-3** résume les différents avantages et inconvénients du bioéthanol **[22]**.

Tableau I-3 : Avantages et les inconvénients du bioéthanol [22]

Avantages	Incontinents
- Diminution des émissions de dioxyde decarbone et meilleur rendementénergétique des moteurs à explosion.	- Les véhicules utilisant l'E85 produisent des émissions plus élevées d'oxyde d'azote, d'éthylène et d'acétaldéhyde que les véhicules à essence.
- Indice d'octane élevé permettant unemeilleure efficacité des moteurs àexplosions.	- Indice de cétane faible ne permettant pas son utilisation dans les moteurs à combustion interne sans l'ajout d'un accélérateur d'ignition.
- Diminution des émissions de particules , de soufre, de benzène et de butadiène 1-3.	-Augmentation des émissions d'hydrocarbures par évaporation nécessitant un réglage de la pression de vapeur du carburant.
- Risque moins élevé de formation d'ozone que l'essence et le diesel.	- Emission d'acide acétique en cas de réaction entre le catalyseur et le carburant résiduel à l'échappement.
- Biodégradable.	-Corrosion des pièces en contact avec l'éthanol.
-Diminution de la dépendance au paysproducteurs de pétrole.	-Prix encore élevé.
-Stimulation du milieu rural.	-Concurrence entre alimentation et énergie

III.1.5. Utilisation de bioéthanol

De façon globale, il existe trois marchés pour le bioéthanol dans le monde : les boissons, lescarburants et les applications industrielles.

❖ **Les applications industrielles :**

Comme de nombreux produits chimiques simples, le bioéthanol occupe une place de molécule plate-forme pour les industries chimiques et para chimiques. Ses applications industrielles comprennent des utilisations finales importantes où il joue le même rôle que l'éthanol obtenu par voie chimique, telles que :

– les produits pharmaceutiques;

– les cosmétiques et articles de toilette;

– les détergents et produits de nettoyage;

– les encres d'imprimeries;

– les peintures et revêtements ;

– le lavage d'écran et dégivreurs pour l'industrie automobile ;

– les biocides et autres utilisations médicales ;

– la production d'importants intermédiaires chimiques, comme pour les polymères et les plastiques **[23]**.

❖ **Les carburants**

Bien que l'éthanol puisse être utilisé à l'état pur comme carburant substitut à l'essence dérivée du pétrole, il est généralement utilisé en mélange à des niveaux de concentrations variables. Les mélanges d'éthanol et d'essence sont identifiés par l'abréviation « Exx », où « xx » qui indique le pourcentage d'éthanol inclus dans le mélange. Un carburant E20 contient donc 20 % d'éthanol et 80 % d'essence alors qu'un carburant E100 correspond à de l'éthanol pur. Plusieurs types de mélange sont commercialisés dont les plus fréquents sont le E5, le E10, le E85 et le E100 **[24].**

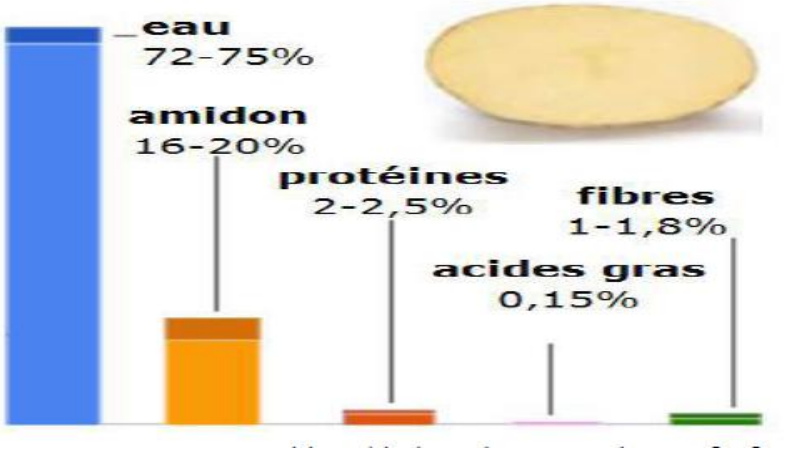
III.1.6. La pomme de terre

Le tubercule de pomme de terre ou de pomme de terre est l'une des plantes de dicotylédone. C'est une plante herbacée vivace plantée en abondance qui n'a pas de bonnes qualités nutritionnelles et une grande proportion d'amidon. La pomme de terre est le genre Solanumappartenant à la famille de *Solanacées* **[25].**

III.1.7. Composition chimique du tubercule de la pomme de terre

L'une des caractéristiques d'un tubercule de pomme de terre est qu'il s'agit d'une plante herbacée vivace dont l'herbe peut atteindre jusqu'à 1 mètre et produire des tubercules de pomme de terre.

Le tubercule de la pomme de terre contient une grande quantité d'amidon **(Figure I-2)** et se classe au quatrième rang des cultures les plus productives au monde après le maïs, le blé et le riz **[26].**



FigureI-2 :Composition chimique de la pomme de terre[28]

III.1.8. Amidon de la pomme de terre :

L'amidon est un polysaccharide d'origine végétale composé d'unités glucose ($C_6 H_{12} O_6$) **[27].** Issu de la photosynthèse, l'amidon, qui constitue la réserve en sucre des végétaux, se présente sous forme de grains de taille variable (1 à 200 µm) et donne dans l'eau une solution colloïdal. Il est stocké dans les organes de réserve des végétaux tels que les céréales (30-70% de la matière sèche), les tubercules de pomme de terre (60-90 %) et les légumineuses (25 à 50 %) **[28, 29].** L'amidon est également utilisé dans de nombreux secteurs industriels non-alimentaires : la production papetière, l'industrie pharmaceutique, cosmétique, textile etc. Il est devenu également ces dernières années une matière première intéressante pour la production de matières plastiques biosourcée et biodégradables ainsi que pour la production de bioéthanol, qui est un carburant utilisé dans les moteurs à essence **[28].**

III.1.9. Composition chimique de l'amidon

L'amidon est constitué majoritairement d'une fraction glucidique (98 à 99%) et d'une fraction non glucidique mineure (1 à 2%). Cette dernière, malgré sa présence en faible quantité, ne doit pas être négligée, car elle modifie les propriétés fonctionnelles, en particulier la présence des lipides. L'amidon est un homopolymère d'unité D-glucose, dans la conformation chaise la plus stable. Les unités D-glucoses sont liées majoritairement (95 à 96 %) par des liaisons de type (1,4)et dans une moindre mesure (4 à 5 %) par des liaisons de type (1,6). Schoch, 1945 a montré que l'amidon est composé de deux polymères de structures primaires différentes : l'amylose, molécule essentiellement linéaire et l'amylopectine, molécule ramifiée **[30].**

A. Amylose

Selon l'origine botanique, les teneurs en amylose et en amylopectine varient respectivement de 20 à 30% et de 70 à 80% pour les amidons standards. Cependant, quelques espèces d'amidon peuvent contenir moins de 1% d'amylose (maïs cireux ou waxy) ou entre 45 à 80% d'amylose (amylomaïs) **[31].** L'amylose est caractérisée par une macromolécule de structure linéaire constituée d'unités α-D-glucose, liées par des liaisons de type α (1-4) **(FigureI-3)**. L'amylose se compose de plusieurs chaînes présentant des degrés de polymérisation variables, fonction de l'origine botanique, entre 500 et 6000 unités glucose [**32]**.

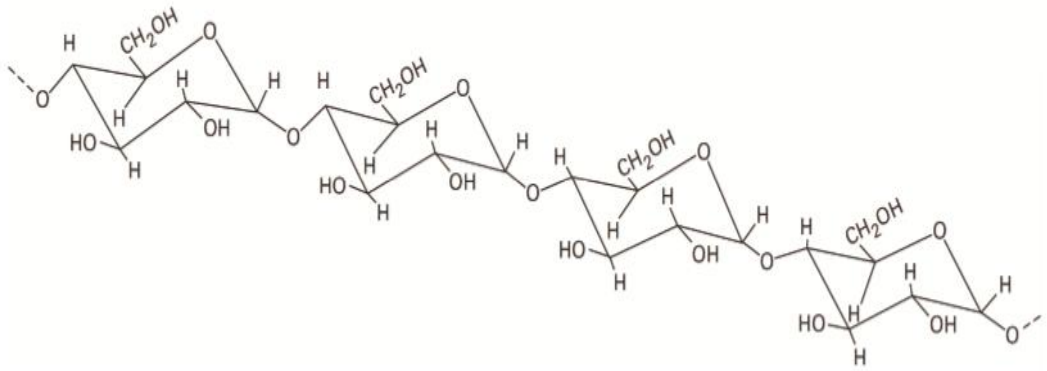


Figure I-3 : Structure chimique de l'amylose [31].

Du fait de son caractère essentiellement linéaire et de la présence de liaisons de type α (1-4), l'amylose est susceptible de former des complexes d'inclusion avec de nombreuses molécules organiques ou minérales, comme l'iode, les acides gras libres, les lipides monoacylés et certaines molécules aromatiques. Dans ces complexes, l'amylose a une conformation hélicoïdale (6 unités glucose/tour), dans laquelle tous les groupements hydrophiles de la chaîne sont tournés vers l'extérieur et les groupements hydrophobes vers l'intérieur **[31]**. Dans le cas de l'iode, la formation du complexe conduit au développement d'une coloration bleue (absorption maximale à 640 nm) caractéristique, propriété utilisée pour mesurer la quantité d'amylose dans l'amidon. Les solutions d'amylose ne sont pas très stables en raison de la forte tendance à former des liaisons hydrogène intramoléculaires **[31].**

B. Amylopectine

Contrairement à la longue chaîne linéaire d'amylose, l'amylopectine est une macromolécule de structure ramifiée (**FigureI-4)**. L'amylopectine est formée par la polymérisation d'un seul monomère D-glucose, lié principalement par des liaisons α (1-4) et quelques liaisons α (1-6) à l'origine des ramifications, ces dernières représentent environ 5 à 6%

du nombre total de liaisons **[33]**,Les ramifications constituant la macromolécule d'amylopectine se répartissent en chaînes A avec un degré de polymérisation moyen (DP = 15-20) et en chaînes B avec un degré de polymérisation d'environ 45 . La masse moléculaire moyenne de l'amylopectine est assez élevée, les valeurs les plus souvent citées dans la littérature se situent entre 107 et 108 g/mole **[34].**

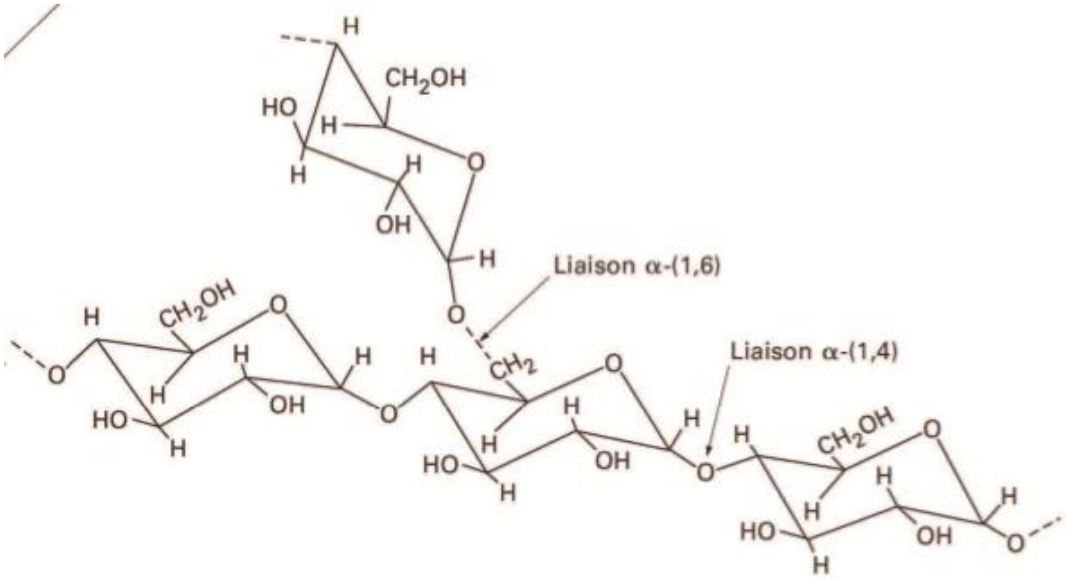


Figure I-4 : Structure chimique de l'amylopectine [31].

L'amylopectine se complexe également avec l'iode pour donner une couleur variant du rouge au violet (et non pas bleue comme dans le cas de l'amylose) car la complexation de l'iode se fait seulement sur les chaînes externes de l'amylopectine. Le haut degré de ramification de l'amylopectine ne lui permet pas de rétrograder rapidement comme dans le cas de l'amylose. Cependant, on attribue à l'amylopectine la propriété de pouvoir gélifier très lentement.

III.1. 10.Propriétés hydro-thermiques de l'amidon :

L'amidon est insoluble dans l'eau à température ambiante. A cette température, l'humidité relative de l'air influence la cristallinité, indiquant par-là la perméabilité du grain vis-à-vis de l'eau (phénomène de sorption).

A une température supérieure à 60 °C, le phénomène d'empesage intervient. Il s'agit d'une perte de la cristallinité du grain et une dispersion de ces composants. La température à laquelle débute la dispersion des amyloses dépend de l'origine botanique. Lorsque le chauffage se prolonge, l'amylose amorphe se solubilise dans le milieu, Les petites molécules d'amylose sont libérées plus facilement tandis que des températures pouvant atteindre 90 °C sont nécessaires

pour avoir une dispersion totale, y compris celle des amyloses participant à la cristallisation de l'amylopectine. L'état final est appelé empois d'amidon. Il s'agit d'une déstructuration irréversible du grain conduisant à une solution comprenant des granules gonflés et des macromolécules solubilisées.

En revenant à la température ambiante, il y a gélification par rétrogradation de l'amidon, l'amidon gélatinisé se réorganise pour atteindre un état énergétiquement plus stable, au cours de ce phénomène, la solubilité de l'empois diminue pour finalement donner un gel blanc et opaque, mélange d'amylose et d'amylopectine **(Tableau I-4) [35].**

Tableau I-4 : Plage de gélatinisation de l'amidon en fonction de son origine[36].

Origine de l'amidon	Plage de gélatinisation °C
Maïs	60-72
Blé	60-65
Tapioca	52-64
Pomme de terre	58-66

III.1.11. Hydrolyse enzymatique de l'amidon :

L'amidon est utilisé depuis longtemps pour produire du glucose en utilisant des enzymes connues sous le nom d'amylases. Les amylases sont des enzymes qui hydrolysent les molécules d'amidon pour donner divers produits, y compris des dextrines et progressivement de plus petits polymères composés d'unités de glucose.

Bien que les amylases puissent dériver de plusieurs sources (les plantes, les animaux et les micro-organismes), les enzymes microbiennes répondent généralement plus aux exigences industrielles. Aujourd'hui, un grand nombre d'amylases microbiennes sont disponibles et elles ont presque complètement remplacé l'hydrolyse chimique de l'amidon dans les industries de transformation de l'amidon [**37].**

L'α-amylase : Elle est présente dans les plantes et dans les animaux. La salive humaine et le pancréas sont riches en cette enzyme. L'alpha -amylase est une endoamylase qui hydrolyse au hasard les liaisons osidiques (1,4), de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et du glycogène à l'exclusion des liaisons terminales de ces chaînes. Elle provoque la libération du glucose et d'oligosides de 2 à 7 unités (maltose, maltotriose et surtout d'α–

dextrines). Les propriétés des alpha amylases sont très variables et dépendent de l'origine de l'enzyme **(TableauI-5) [37].**

Tableau I-5 : Propriétés de quelques alpha amylases[38].

Origine	Masse molaire KDa	PH optimum	Température optimale °C
Animale			
Pancréas de porc	50	6,9	37-40
Salive	50	6,9	37-40
Végétale			
Orge	60	4,7-5,4	50-55
Microbienne			
A. Niger	58	4-5	50
A. orywae	52,5	5,5-6,9	40
B. subtilis	47	5,3-6;4	50
C. acidocaldarius	68	3,5	75
B. amyloliquefasciens	49	5,9	65
C. licheniformis	22-23	5,9-9	76

La β-amylase qui agit à partir de l'extrémité non-réductrice de la chaîne, coupe l'amidon en unités maltose (un disaccharide) **[37]**.

La γ-amylase (ou amyloglucosidase ou encore glucoamylase) : se sont des exo-enzymes qui coupent la chaîne à la dernière liaison glucosidique α (α (1,4) et α (1,6)) à l'extrémité non-réductrice, et conduit au monosaccharide glucose. La γ-amylase scinde aussi les liaisons α (1,6) ; c'est est une enzyme essentiellement produite par des moisissures du genre *Aspergillus sp., Penicillium sp.* et *Rhizopus sp* **[35].**

III.2. Saccharomyces cerevisiae :

III.2.1. Définition :

La levure de *Saccharomyces cerevisiae* est un eucaryote unicellulaire, ayant une forme sphérique ou ovale. Son état physiologique et sa morphologie peuvent varier selon les conditions

de l'environnement. Lorsqu'elle se trouve dans des conditions favorables de culture (température, aération, pH, etc.) elle peut se diviser activement par bourgeonnement. La taille d'une levure peut varier entre 1 et 9 µm en longueur et de 1 à 5 µm en largeur. Depuis plus de 3000 ans, ces levures ont servi à la fabrication du pain. Mais ce n'est qu'entre 1857 et 1863 que Louis Pasteur démontre le rôle de la levure en tant que micro-organisme responsable de la fermentation alcoolique **[39].** La levure S*accharomyces cerevisiae* est l'une des levures la plus employée lors de la fermentation des sucres. Elle consomme le sucre « glucose » et le transforme en alcool « bioéthanol ». Elle joue un rôle très important dans le domaine des énergies renouvelables et des biocarburants (bioéthanol), et aussi dans les industries chimiques. De nos jours, la levure saccharomyces cerevisiae est également largement exploitée comme usine cellulaire pour la production de molécules d'intérêt. Dans le domaine pharmaceutique et médical, pour la production de vaccins, de protéines comme l'insuline **[40].** Elle occupe une place privilégiée dans les activités industrielles. Le secteur d'utilisation de la levure de *Saccharomyces cerevisiae* présente aujourd'hui un très fort potentiel de croissance.

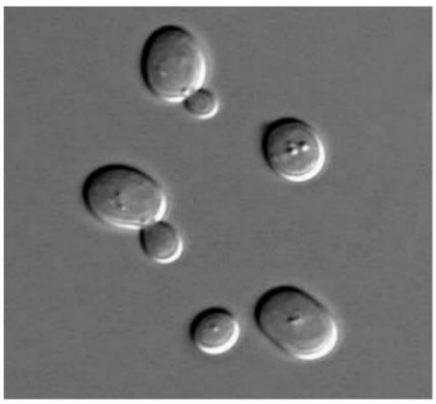


Figure I-5 : *Saccharomyces cerevisiae* [41].

III .2.2. La fermentation alcoolique :

Le procédé de fermentation représente la conversion des sucres fermentescibles (Glucose) en éthanol. La plupart des fermentations industrielles utilisent la levure *Saccharomyces cerevisiae* en raison de plusieurs avantages **[42] :**

- la capacité à obtenir des rendements élevés de fermentation de l'éthanol, couplée à une forte acceptation par le marché et le public ;
- la résistance à une pression osmotique élevée, ainsi que la tolérance à des pH faibles et aux produits inhibiteurs.

III.2.3. Facteurs influençant la fermentation :

Plusieurs facteurs influencent la production de bioéthanol, notamment la température, la concentration en sucre, le pH, le temps de fermentation, la vitesse d'agitation **[43]**

A. Effet de la température :

Le taux de croissance des micro-organismes est directement affecté par la température **[44] .** Une température élevée, défavorable à la croissance cellulaire, devient un facteur de stress pour les micro-organismes **[45].** La plage de température idéale pour la fermentation se situe entre 20 et 35 °C. Les cellules libres de *S. cerevisiae* ont unetempérature optimale proche de 30 °C tandis que les cellules immobilisées ont une températureoptimale légèrement supérieure en raison de leur capacité à transférer la chaleur de la surfacedes particules à l'intérieur des cellules **[46]**. De plus, les enzymes qui régulentl'activité microbienne et le processus de fermentation sont sensibles aux hautes températures quipeuvent dénaturer leur structure tertiaire et inactiver les enzymes. Ainsi, la température est soigneusement régulée tout au long du processus de fermentation **[47].**

B. Effet de la concentration en sucres :

L'augmentation de la concentration en sucres jusqu'à un certain niveau permet d'augmenter le taux de conversion en éthanol. Cependant, l'utilisation d'une concentration excessive de sucre entraînera un taux de fermentation stable, qui est atteint lorsque la concentration en sucre utilisée dépasse la capacité d'absorption des cellules microbiennes. Généralement, le rendement maximal de production d'éthanol est atteint lors de l'utilisation de sucres à la concentration de 150 g/L. Laconcentration initiale en sucre est également considérée comme un facteur important dans la production d'éthanol. Une productivité et un rendement élevés en éthanol en fermentation discontinue peuvent être obtenus en utilisant une concentration initiale en sucre plus élevée. Cependant, ce mode de culture nécessite un temps de fermentation plus long et induit un coût de récupération de l'éthanol plus élevé **[43].**

C. Effet du pH :

La production d'éthanol est influencée par le pH du milieu de culture car elle affecte la contamination bactérienne, la croissance des levures, le taux de fermentation et la formation de sous-produits. La perméabilité de certains nutriments essentiels aux cellules est influencée par la concentration en H+ dans le moût de fermentation **[43]**. De plus, la survie et la croissance des levures sont influencées par le pH de 2,75à 4,25 **[48]**. En fermentation pour la production d'éthanol, la plage de pH optimale de *S. cerevisiae* est de 4,0 à 5,0 **[49]**. Lorsque le pH est

inférieur à 4,0, une période d'incubation plus longue est nécessaire, mais la concentration d'éthanol est réduite de manière significative. Cependant, lorsque le pH est supérieur à 5, la concentration d'éthanol diminue considérablement **[50]**.

D. Effet de la durée de fermentation :

La durée de fermentation affecte la croissance des micro-organismes. Une durée plus courte induit une fermentation peu efficace en raison d'une croissance plus faible des micro-organismes. D'un autre côté, un temps de fermentation trop long produit un effet toxique sur la croissance microbienne, en particulier en mode discontinu en raison de la forte concentration d'éthanol dans le moût de fermentation. Une fermentation complète peut être obtenue à une température plus basse en utilisant une durée de fermentation plus longue qui se traduit par un rendement en éthanol plus faible **[43].**

E. Effet de l'agitation :

La vitesse d'agitation contrôle le transfert des nutriments du moût de fermentation vers l'intérieur des cellules, ainsi que l'excrétion de l'éthanol de la cellule vers le moût de fermentation. Plus l'agitation est intense, plus la quantité d'éthanol produit est élevée. En outre, elle augmente la consommation de sucre et réduit l'inhibition de l'éthanol sur les cellules. En laboratoire, une gamme de vitesse d'agitation communément employée pour la fermentation par des levures est de 150 à 200 tr/min **[43].**

III.2.4. Métabolisme général de *S. cerevisiae* :

A. Classification métabolique :

Trois comportements métaboliques peuvent être distingués chez les levures selon la façon dont elles dégradent la source de carbone utilisée pour produire leur énergie : oxydatif, fermentaire et respiro-fermentaire (mixte). Le type de comportement varie selon l'environnement (présence d'oxygène), la source de carbone et l'espèce de la levure considérée. Ainsi, bien que toutes les levures soient capables de se développer sur glucose [**51].** Le type de métabolisme développé en présence de ce substrat est spécifique de l'espèce. Kappel a proposé une classification des levures selon leur comportement vis-à-vis de l'oxygène et du glucose **[52].** Il distingue les levures purement oxydatives qui ne produisent jamais d'éthanol, les levures sensibles à l'oxygène qui produisent de l'éthanol uniquement lorsqu'elles sont limitées en oxygène et les levures sensibles au glucose (Crabtree positives) qui présentent un métabolisme respiro-fermentaire en présence d'oxygène, lorsque la concentration en glucose résiduel dans le

milieu de culture dépasse une valeur seuil. *S. cerevisiae* est une levure Crabtree positive, elle présente un métabolisme oxydatif pour de faibles concentrations de glucose en présence d'oxygène, un métabolisme respiro-fermentaire lorsque la concentration en glucose résiduel augmente et un métabolisme fermentaire en condition anaérobie.

B. Métabolisme oxydatif :

Le métabolisme respiratoire, ou oxydatif pur, n'est observable que si la concentration en glucose est inferieure a 150 mg/L ou, sur des cultures de type chemostat, si la vitesse d'apport de glucose est inferieure a une valeur seuil appelée taux de dilution critique (Dc) **[53].**Au-delà du taux de dilution critique (0,2 h^{-1}), le métabolisme devient respiro-fermentaire et la levure produit de l'éthanol. Le catabolisme oxydatif du glucose consiste en une dégradation complète de la molécule de glucose en eau et en gaz carbonique, à travers la glycolyse, le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative. En métabolisme oxydatif, le rendement biomasse de la souche *S. cerevisiae* est maximum et s'établit à 0,5 gramme de biomasse par gramme de glucose **[54].** Dans ces conditions, les cofacteurs réduits NADH et FADH2, produits par la glycolyse et le cycle de Krebs, sont réoxydés dans la mitochondrie. Les électrons libérés par les cofacteurs sont transmis aux différents complexes protéiques constituant la chaine respiratoire, à travers une cascade de réactions d'oxydoréduction, de potentiel croissant jusqu'à l'oxygène, qui joue le rôle d'accepteur final. L'énergie ainsi libérée permet d'accumuler a contre gradient des ions H+ dans l'espace inter membranaire des mitochondries. La différence de potentiel ainsi créée active les ATP synthéases et permet la phosphorylation de l'ADP en ATP. L'efficacité de la chaine respiratoire est illustrée par le nombre de moles d'ATP formées par atome d'oxygène consommé **[55](FigureI-6).** Ainsi l'oxydation totale d'une molécule de glucose libère six molécules de CO2 et une quantité d'énergie suffisante pour produire 38 molécules d'ATP.

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6\,H_2O + \text{Energie}$$

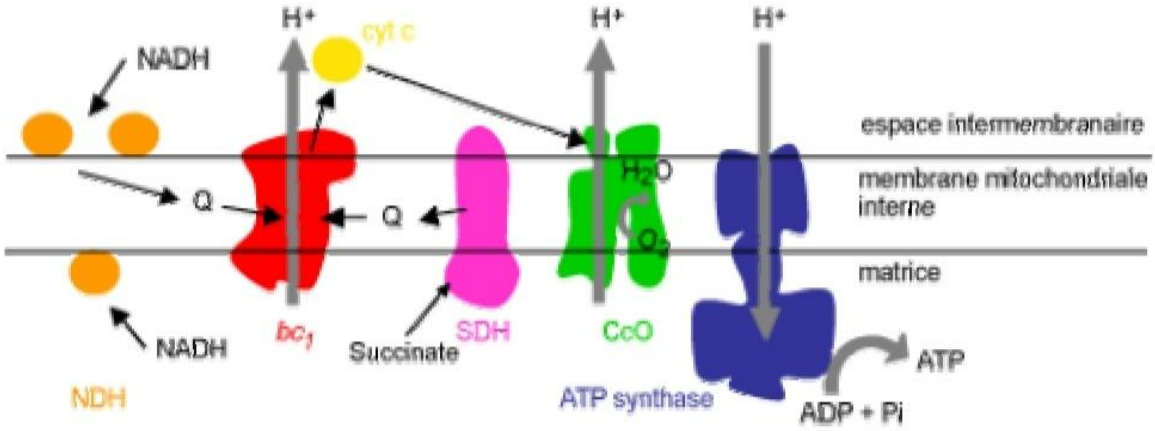


Figure I-6 : Chaine respiratoire chez la levure[56].

C.Métabolisme respiro-fermentaire :

En présence d'oxygène, en mode discontinu ou semi-continu lorsque la concentration en glucose est supérieure à un certain seuil, ou en chemostat lorsque le taux de dilution dépasse Dc, *S. cerevisiae*change de métabolisme pour passer à un métabolisme respiro-fermentaire (oxydo-réductif ou mixte). Cette transition respiro-fermentaire est aussi appelée effet Crabtree. Le métabolisme respiro-fermentaire se caractérise par (i) une diminution du rendement biomasse, (ii) la production de co-produits tels que l'acétate, l'éthanol et le glycérol, (iii) une vitesse spécifique de consommation d'oxygène réduite **[57]**. Pour expliquer l'origine de l'effet Crabtree, deux hypothèses principales peuvent être envisagées **[58]** :

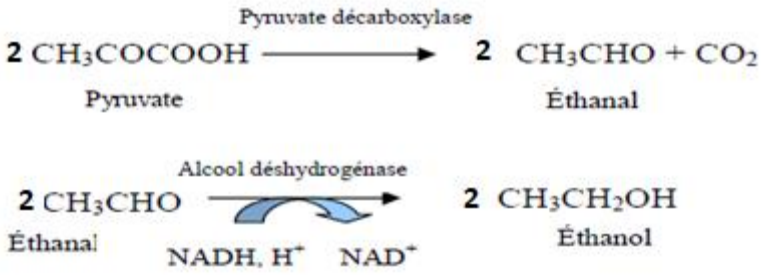
- La limitation de la capacité respiratoire, due à la répression de certaines enzymes par le glucose ; la diminution de la capacité cellulaire de réoxydation du NADH entrainerait l'apparition de conditions réductives dans la cellule, favorisant la production d'éthanol. La transformation du pyruvate en éthanol produit peu d'énergie, en comparaison de la phosphorylation oxydative : le flux glycolytique augmenterait pour subvenir aux besoins cellulaires en ATP. La limitation pourrait notamment se situer au niveau du transport du pouvoir réducteur du cytosol vers la mitochondrie **[58,59].**
- La saturation métabolique au niveau du nœud du pyruvate ; un flux glycolytique trop important saturerait progressivement les enzymes en aval du nœud du pyruvate, aboutissant à la redirection d'une partie du carbone vers différents co-produit **[55, 60, 61,62]**.

D.Métabolisme fermentaire :

En absence d'oxygène, *S cerevisiae*ne peut pas respirer et présente un métabolisme uniquement fermentaire. La glycolyse constitue la première étape de la dégradation du glucose. Elle se fait en aérobiose comme en anaérobiose et amène à la formation de deux molécules de pyruvate, deux molécules d'ATP et deux molécules de NADH, H^+ selon l'équation suivante :

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,NAD^+ \rightarrow 2\,CH_3\text{-}CO\text{-}COOH + 2\,NADH, H^+ + 2ATP$$

Les NADH, H^+ formées subissent une réoxydation en anaérobiose amenant dans le cas de la fermentation alcoolique, à la réduction de l'acétaldéhyde (issu de la décarboxylation du pyruvate) en éthanol selon les réactions suivantes **[63].**



La réaction globale est donc :

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\,CH_3\text{-}CH_2\text{-}OH + 2CO_2$$

Le rendement théorique est de 0, 511 g d'éthanol/g d'hexose. Cependant, en raison de la formation de sous-produits tels que le glycérol et les acides organiques et de la croissance et maintenance cellulaire, le rendement réel maximal est d'environ 0,485 g d'éthanol/g d'hexose, appelé rendement de Pasteur **[64]**.

PARTIE EXPERIMENTALE

Ce travail a été réalisé au niveau du hall technologique de l'université Yahia Farès de Médéa. Il faut signaler que les conditions opératoires, les méthodes d'analyse, ainsi que le protocole général de cette étude ont été adaptés aux moyens disponibles. L'objectif de ce procédé est de convertir l'amidon des épluchures de la pomme de terre en éthanol et ce en passant par quatre étapes :

- Une première étape de prétraitement physique (traitement thermique + broyage).
-Une deuxième étape de traitement enzymatique en utilisant une α-amylase pour la liquéfaction et la glucoamylase pour la saccharification.
-Une 3ème étape de fermentation alcoolique en utilisant *Saccharomyces cerevisiae*.
-Une dernière étape de récupération du produit par distillation.

I. Matériels :

I.1 Verreries et petit matériel :

- Verrerie de laboratoire : pipettes + poire, fioles jaugées, béchers, erlenmeyers, cristallisoirs, éprouvettes, verre de montre, tubes à essaies….
- Spatules, micropipettes, barreaux magnétiques, thermomètres, pinces métalliques, bec bensun, disques en papier filtre 6mm, écouvillons stériles et pipettes pasteurs.

I.2 Réactifs, produits et solutions :

- Iode (I_2).
- Iodure de potassium (KI).
- Solution d'iodine mère (0.1N) et Solutions d'iodine diluées 0.05N et 0.001N.
- Acide chlorhydrique HCl pur (12N), solutions d'HCl (0.1N) et (0.2N).
- Solution tampon (acétate de sodium tri hydraté/ acide acétique), pH 5.8.
- Solutions d'amidon de concentration différentes.
-Réactif de dosage du Glucose type « Bio labo ».
-Solution de bichromate de potassium (0.1M).
-Solution d'acide sulfurique 25%.
-NaOH 0.01N.
- Phénolphtaléine

La préparation de certaines solutions est indiquée sur l'**annexe 01.**

I.3 Equipements

- Agitateur magnétique « Heidolph MR Hei-standard »
- Balance « Sartorius »
- Spectrophotomètre (UV-Visible) « UV mini 1240-SHIMADZU »
- pH mètre « Hanna »
- Bain-marie « Memmert »
- Autoclave « Memmert »
-Centrifugeuse « EBA20 »
- Dispositif de distillation « Jeulin ».

I.4 Matériel biologique :

• Biocatalyseurs (Enzymes) :

- Alpha-amylase BAN 480L en solution, aimablement fournie par le complexe SAIDAL de Médéa : Code 09330028 L, Titre : 3.7 à 4.1 $*10^6$ unités CEIP /100 ml, Densité : 1.2g/ml. Température optimale **55°C, pH $_{Optimum}$ = 6.**
- Glucoamylase en poudre : Température optimale **50°C**, **pH $_{Optimum}$ =4.**

• Micro-organismes :

- *Saccharomyces cerevisiae* commercialisée « S.I. Lesaffre Marq-France ».
- *Staphylococcus aureus* ATCC6538.

- **Biomasse à fermenter ou matière première : Epluchures de pommes de terre.**

II. Méthodes, Résultat et Discussion :

II.1 Caractérisation d'épluchure de pomme de terre :

L'objectif de cette étape est la détermination des pourcentages relatifs à l'eau et à l'amidon dans les déchets de la pomme de terre fraiche.

Méthode :

100g de déchets sont découpés en lamelle fines, bien rincées avec de l'eau, puis séchées à **105°C** jusqu'à poids constant. Le pourcentage d'eau est calculé selon l'équation suivante :

$$\textbf{T eau (\%)} = [(PF - PS) / PF] \times 100 \quad \textbf{..... (1)}$$

Où :

T eau (%) : Teneur en eau, en pourcentage.

PF : le poids d'épluchures de pomme de terre fraiches (avant séchage) en g (100g).

PS : le poids sec d'épluchures de pomme de terre (après séchage) en g.

Pour déterminer la quantité d'amidon :

- broyer **100g** d'épluchure de pomme de terre avec une quantité d'eau.
- filtrer le broyat et reprendre le retentât dans un peu d'eau, re-broyer et re-filtrer,
- collecter les filtrats, laisser l'amidon décanter ; enlever l'eau et sécher l'amidon à **105°C**jusqu'à poids constant (PS amidon)
- sécher le retentât à **105ºC**jusqu'à poids constant. Cette masse correspond aux résidus cellulosiques (fibres cellulosiques) insolubles dans l'eau (PS retentât).

Les pourcentages relatifs à l'amidon et aux résidus sont calculés comme suit :

T amidon (%) = [(PS amidon) / PF] ×100 ……..…. (2)

T résidus (%) = [(PS retentât) / PF] ×100 ……..…… (3)

Résultat et Discussion :

La teneur en eau des épluchures de pommes terres calculée selon l'équation (1) est de 88 %. Selon l'équation (2) 6% représente l'amidon. La quantité des fibres est estimée de 7% selon l'équation (3) **(Figure II-1)**.

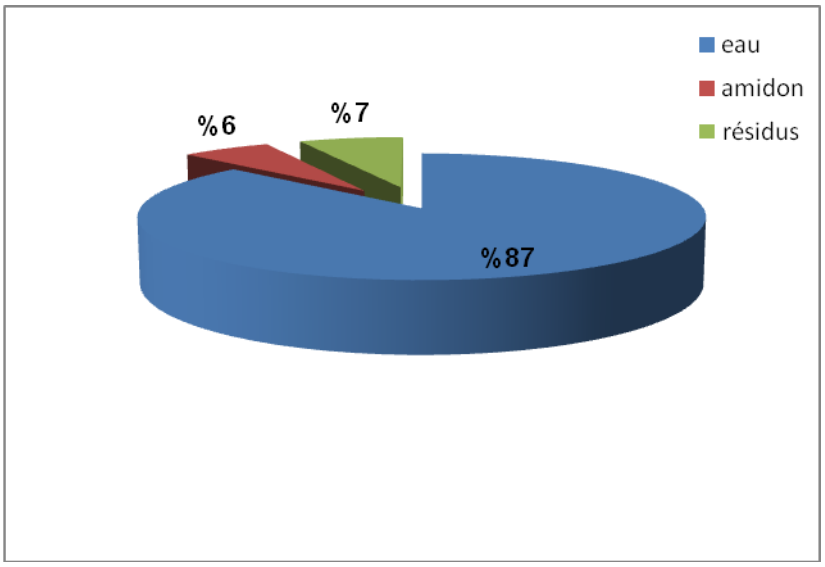


Figure II-1 : Composition des épluchures de la pomme de terre.

Nos résultats concordent bien avec les données bibliographiques. Selon un rapport du FAO (Organisation des nations unies pour l'alimentation) **FAO,2008 : rapport 1 [65]** ; la teneur en eau au niveau de la pomme de terre fraîche est estimée de 80%, alors que la quantité d'hydrates

de carbones est aux environs de 20% (cellulose +amidon) dont 60% à 80% environs d'amidon. D'autres auteurs signalant des taux de 78% et 19% pour l'eau et les glucides respectivement **[66, 67]. Delaplace. P,2007 [68]** confirme aussi que la pomme de terre contient à maturité une moyenne de 77,5% d'eau. La matière sèche exprimée en pourcentage de la matière fraîche est formée principalement de glucide totaux (19,4% ; principalement amidon, saccharose, glucose, fructose, cellulose brut et substances pectiques).

Nos résultats concordent aussi avec ceux trouvés par **Khelilcherfi. Z et Sadfi. N, 2021[69**] ainsi que **Cherifi. N et Benaisssa. F.Z,2020 [70**] qui ont trouvé des pourcentages identiques en eau, en amidon et en résidus au niveau des épluchures de pommes de terre récoltés en Algérie.

II-2 Calcul de l'activité alpha-amylase :

Méthode :

Dans cette partie, nous testons l'alpha-amylase afin de confirmer son activité. Le butest de mesurer sa vitesse maximale, dans les concentrations saturantes en substrat sous des conditions déjà optimisées par **Abdesselam. I, Bennia. N, 2016 [71] (**pH6 T°=55ºC).

Le suivi de la réaction enzymatique se fait en mesurant la quantité restante en amidon à chaque instant en utilisant une Courbe d'étalonnage préétablie **(Annexe 02)**. Le protocole se résume ainsi :

1. Préparer **100 ml** de solutions d'amidon à **10 g/l, 20 g/l et 30 g/l** dans du tampon pH6.

2. Ajouter pour chaque solution **0.5 ml** d'enzyme diluée au **1/1000**. Incuber dans un bain marie à une température de **55ºC**.

3. Prélever 1ml du milieu réactionnel à **T0, 5 min, 10 min et 15 min**. Faire des dilutions avec HCl (0.1 N) afin d'arrêter la réaction et pour mesurer la quantité d'amidon restante dans la gamme d'étalonnage.

5. Ajouter à **1ml** du mélange final à **2.4ml** d'iodine (0.001N).

6. Mesurer l'absorbance à 620nm après une incubation à l'abri de la lumière pendant 15 min.

7. Déduire les concentrations en amidon correspondantes aux prélèvements à partir de la courbe d'étalonnage et en tenant en considération les taux de dilutions effectués.

Résultat et Discussion :

Les résultats représentés sur la **(Figure II-2)** montrent une diminution de la concentration de l'amidon pour toutes les concentrations initiales testées. L'alpha-amylase est donc fonctionnelle. Toute la quantité d'amidon est pratiquement dégradée au bout de 15min pour une concentration initiale de **10g/l**. La concentration a diminué jusqu'à **4g/l** pour une concentration

initiale de **20g/l** alors qu'un palier situé aux environs de **14g/l** est obtenu à partir de 15min pour une concentration initiale de **30g/l.**

La représentation des vitesses initiales obtenues à partir des pentes relatives aux tangentes tracées au niveau des phases linéaires en fonction des concentrations initiales en amidon **(Figure II-2)** nous donne une courbe hyperbolique, appelée courbe de saturation de l'enzyme par le substrat, où ce modèle représente la cinétique de Michaelis-Menten **(FigureII-3)** dont l'équation est de :

$$Vi = \frac{Vmax[s]}{Km+[s]} \quad \text{..... (4)}$$

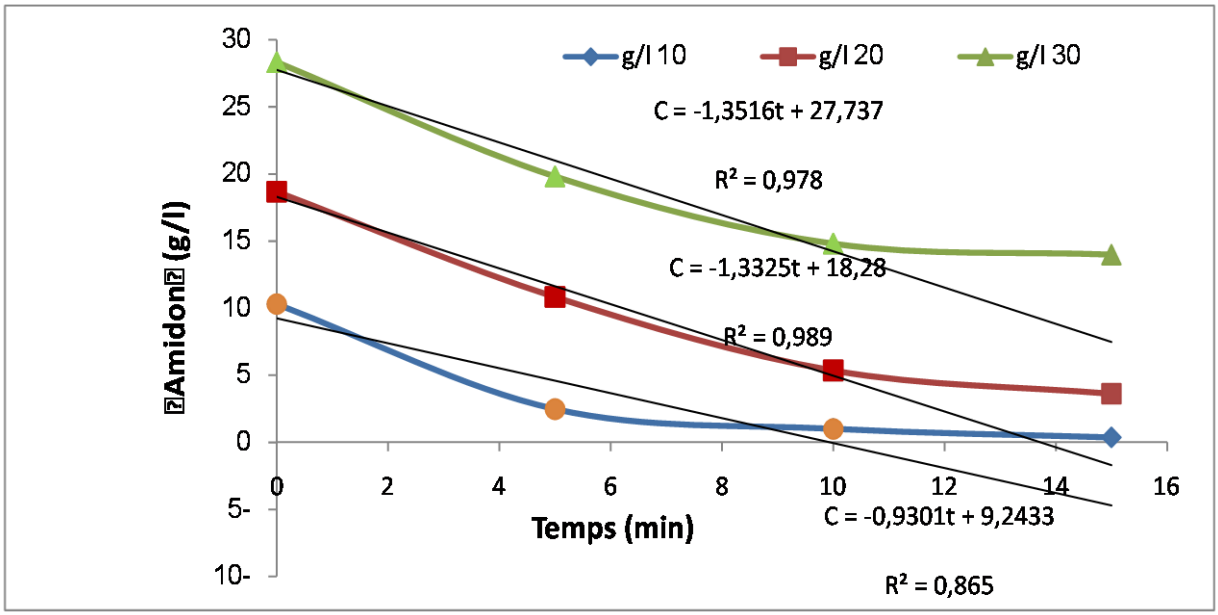


Figure II-2 : Cinétique de dégradation de l'amidon par la BAN α-amylase à pH6, T°=55°C.

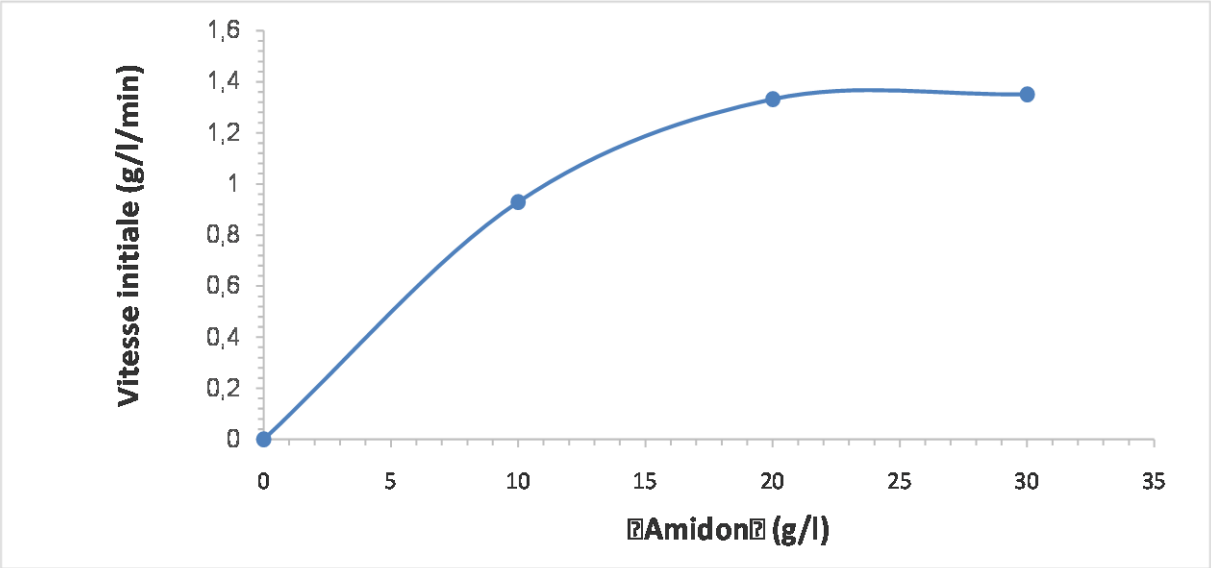


Figure II-3 : Courbe de saturation : Evolution la vitesse initiale (Vi) de l'alpha-amylase en fonction de la concentration initiale en amidon.

A partir de la courbe de saturation de Michaelis-Menten, nous pouvons déterminer les constantes **Km** et $\mathbf{V_{max}}$. $\mathbf{V_{max}}$ correspond à la vitesse maximale pour une concentration saturante en substrat. Km (constante de Michaelis-Menten) est inversement proportionnel à l'affinité **($\mathbf{Km^1}$)** de l'enzyme pour son substrat.

Km est la concentration en substrat correspondante à la moitié de la vitesse maximale. La vitesse maximale obtenue expérimentalement et tirée à partir de la courbe de saturation **(Figure II-3)** est approximativement **(1.33-1.35) g/l/min** avec un Km aux environ de **7g/l,** ce qui correspond à une affinité 1/Km de **0 ,143 l/g**.

La courbe de saturation étant non linéaire, il est difficile d'évaluer précisément les valeurs de **Km** et $\mathbf{V_{max}}$. Pour cela, nous avons essayé d'appliquer la linéarisation de lineweaver-burk **(Figure II-4)** selon l'équation :

$$\frac{1}{Vi} = \frac{Km}{Vmax}\frac{1}{[s]} + \frac{1}{Vmax} \quad \text{.....(5)}$$

Et la linéarisation d'EadieHofstee**(Figure II-14)**, selon l'équation :

$$Vi = Vmax - Km * \frac{Vi}{[s]} \quad \text{.....(6)}$$

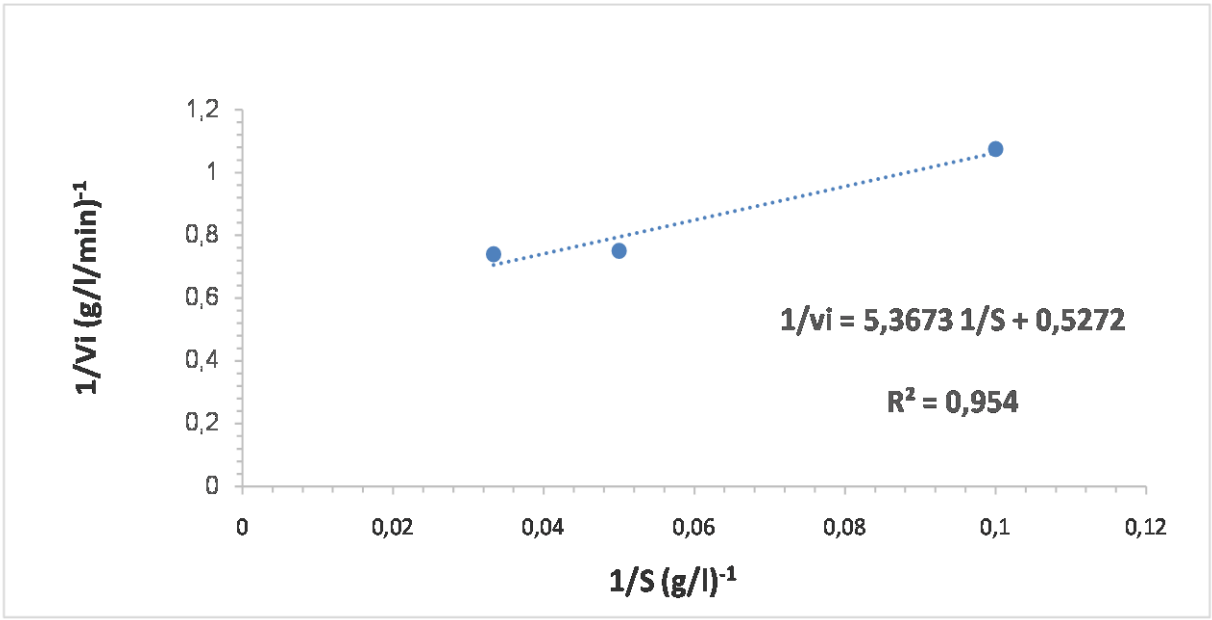


Figure II-4 : Représentation graphique de la linéarisation de lineweaver-burk.

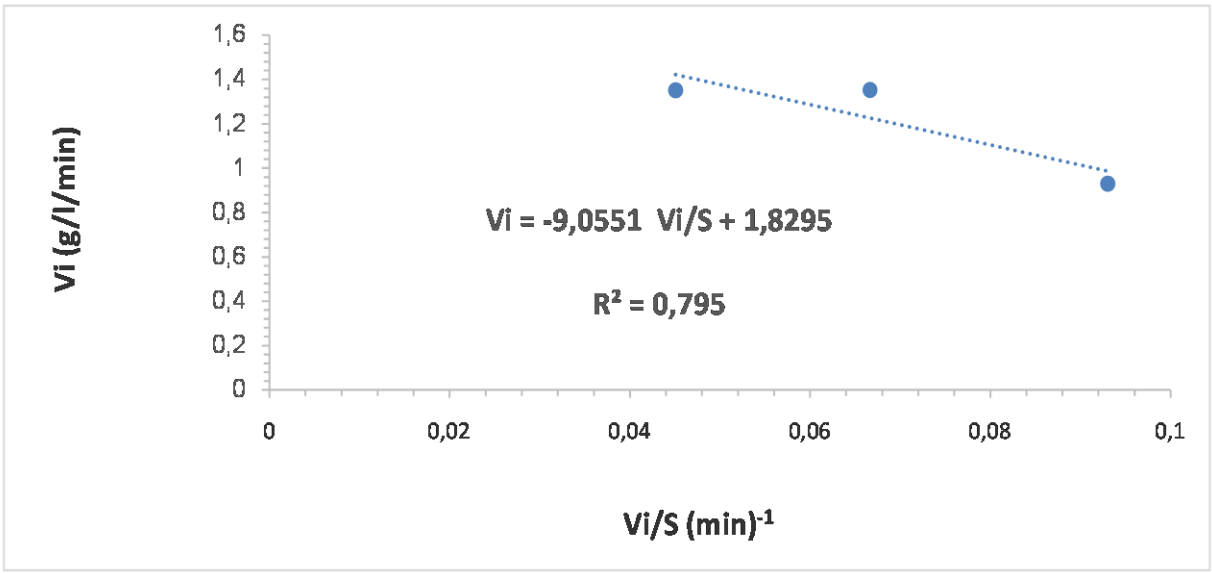


Figure II-5 : Représentation graphique de la linéarisation d'EadieHofstee

Les deux linéarisation **(Figure II-4 et Figure II-5)** permettent d'obtenir une droite linéaire. D'après les équations, nous pouvons déterminer les paramètres cinétiques avec précision. Ces derniers sont représentés sur le **tableau II-1** :

Tableau II-1 : Paramètres cinétiques tirés à partir des linéarisations de Lineweaver-burk et Eadie Hofstee : Comparaison avec ceux tirés à partir de la courbe de saturation.

	Km (g/l)	Vmax (g/l/min)	Affinité 1/Km (l/g)
lineweaver-burk	10.18	1.89	0.098
EadieHofstee	9.055	1.82	0.11
Courbe de saturation	7	1.33-1.35	0.14

Les deux modèles convergent vers les mêmes paramètres cinétiques **Km** et $\mathbf{V_{max}}$. Les vitesses maximales calculées sont différentes de celle trouvée expérimentalement pour une concentration saturante de **30g/l**. En fait, ces modèles calculent les vitesses maximales pour des concentrations saturantes en substrat, supérieures à **30g/L** en tenant compte d'une solubilité idéale de l'amidon utilisé. Réellement, nous avons travaillé avec un amidon difficile à solubiliser à des concentrations supérieures à **30g /l.**

Bilan du test de l'activité enzymatique :

• **Vmax réelle=1.33g/l/min,** ce qui correspond à **0.133 g/min/100ml**,

• La quantité d'enzyme diluée au 1/1000 utilisée est de **0,5ml/100ml** de volume réactionnel.

La vitesse exprimée en g d'amidon hydrolysé/min/volume d'enzyme est donc **0,133 g/min/0,5mld'enzyme diluée au 1/1000**. La vitesse ou l'activité enzymatique par **mld'enzyme diluée au 1/1000** est donc de **0,266 g/min/ml**.

• L'activité enzymatique par **ml d'enzyme pure** est de **266 g/min/ml**.

• En convertissant l'activité en **g/min/ml en (mg/s/ml)**, nous avons **4433.33 mg/s/ml d'enzyme pure**.

• En unité CEIP (**mg/10s/ml**), nous avons **44333.33 CEIP/ml d'enzyme pure**.

Sur l'étiquette des caractéristiques de l'enzyme offerte par SAIDAL, le fournisseur annonce une activité de 3,7 à 4,1* 10^6unités CEIP /100 ml ce qui correspond à une marge allant de 37000 à 41000 CEIP/ml. L'activité enzymatique de l'alpha-amylase mesurée dans les conditions optimales (pH=6 et T°=55°C) est donc proche **(44333.33 CEIP/ml)**.

Des résultats similaires ont été trouvés par **Abdesslam. I et Bennia**. **N, 2016 [71]** (Activité réelle=44333,33CEIP/ml), **Boumenir. S et Azzouzi. F, 2019 [72] (**44000 CEIP /ml) et **Cherifi. N et Bennaissa. F, 20220 [70]** (44666.7 CEIP/ml) ainsi que **Khelilcherfi. Z et Sadfi. N, 2021 [69]** (43666.66 CEIP / ml).

II.3 Production de Bioéthanol à partir des épluchures de la pomme de terre :

II.3.1 Liquéfaction :

II.3.1.1 Historique :

Selon des travaux antérieurs, l'application de la catalyse enzymatiquedirectement sur l'amidon non soluble pose des problèmes, car le substrat est inaccessible aux alpha amylases :

Selon **Absesslam. I et Bennia. N, 2016 [71]** la liquéfaction totale d'une solution d'amidon soluble à **30g/l** s'effectue en 2h dans les conditions optimales : pH op=6, T°op=55°C, un rapport E/S≈ 30 CEIP/g d'amidon. Cependant, une liquéfaction totale d'une solution d'amidon non soluble (de maïs et de riz) à **30g/l** n'a pas été obtenue qu'après trois cycles de « dispersion- liquéfaction » dans les mêmes conditions optimales. Il faut rappeler que la dispersion est un traitement thermique à 130°C sous pression pendant 1h. Cette méthode a été utilisée pour solubiliser l'amidon lors des tests de l'activité alpha-amylase.

Selon **Boumenir. S et Azzouzi. F, 2019 [72]** l'essai de liquéfaction sur la pomme de terre fraiche broyée montre que son amidon à **30g/l** résiste à l'hydrolyse enzymatique dans les conditions optimales **(pH op=6, T°op=55°C, un rapport E/S≈ 30 CEIP/g d'amidon**) à cause de son insolubilité. Le résultat est identique même en augmentant le rapport E/S jusqu'à 3000 **CEIP/g** d'amidon pour la même concentration **(30g/l).** Des essais ont été réalisés dans le but d'améliorer le contact « Enzyme liquéfiante-amidon frais » : diminution de la charge du milieu à **15g/l** avec un rapport **E/S=6000 CEIP/g** d'amidon, ajout de gomme arabique, un prétraitement à la cellulase, changement du type d'alpha-amylase. Cependant, ces tests n'ont pas abouti à une amélioration significative de l'opération de liquéfaction. Enfin, ces auteurs ont cédé au traitement thermique de l'amidon. La dispersion à 130°C avait un effet nettement positif sur la qualité de la liquéfaction. L'amidon est totalement hydrolysé au bout de 1H30min à 2H, dans les conditions optimales suivantes : une température de 55°C, un pH=6, un rapport **E/S= 250CEIP/ g** d'amidon quel que soit sa charge dans le milieu d'hydrolyse **(15g/l, 30g/l, 60g/1).** L'optimisation du traitement thermique a montré que les faibles températures (100°C) sont adéquates aux faibles charges **(15g/l)** alors que les fortes températures (130°C) sont efficaces pour les grandes charges **(60g/l).**

Enfin, **Khelilcherfi. Z et Sadfi. N, 2021 [69]** ont réussi à réduire le temps du traitement thermique à 15min : L'amidon est totalement hydrolysé par la BAN-alpha-amylase au bout de 1H30min à 2H, dans les conditions optimales suivantes : unetempérature de 55°C, un pH=6, un rapport E/S= 300CEIP/ g d'amidon équivalent à 18CEIP/g MF quel que soit sa charge dans le milieu d'hydrolyse **(50, 100, 150, 200g MF/100ml).**

II.3.1.2 Récoltes des épluchures et traitement physique :

Les épluchures de pomme de terre collectées à partir des restaurants sont tout d'abordnettoyées à l'eau pour éliminer toutes les impuretés, égouttées puis séchées avec du papierabsorbant. Pour préparer 100ml d'une suspension d'amidon dispersé à **30g/l, 60 g/l, 120g/l** il faut cuire, sous pression (à 130°C dans une cocotte-minute pendant 15min), une quantité de **50g, 100g, 200g** d'épluchât frais dans un volume suffisant d'eau. Filtrer les épluchas cuits et les broyer dans 100ml de tampon pH et transférer le broyat dans un erlenmeyer.

NB : Nous avons préparé pour chaque concentration quatre Erlens ce qui revient à un volume total de 400ml.

II.3.1.3 Liquéfaction des broyats :

La liquéfaction de l'amidon consiste à son hydrolyse en chaines glucidiques plus courtes qu'on appelle dextrines. Elle se fait généralement soit par hydrolyse acide ou enzymatique. Notre objectif est d'appliquer un procédé vert en testons en priorité la catalyse enzymatique par rapport au traitement chimique qui est polluant et coûteux (usage d'acide et de l'énergie). Pour cela, nous avons utilisé la BAN alpha-amylase dans un rapport E/S aux environs de 250 à 300 CEIP/g amidon, rapport optimisé par **Boumenir. S et Azzouzi. F, 2019 [72], Cherifi. N et Bennaissa. F, 2020 [70]** ainsi que **Khelilcherfi. Z et Sadfi. N, 2021 [69].**

Méthode :

La liquéfaction suit le protocole suivant :

- Incuber les suspensions préparées à 55°C pendant 5 min dans un bain marie sous agitation afin de stabiliser la température à l'intérieur du milieu réactionnel.
- Commencer l'hydrolyse en ajoutant aux concentrations **30g/l, 60g/l, 120g/l** (V=100ml) 1ml, 2ml, 4ml d'alpha-amylase diluée (1/50) respectivement, ce qui permet de maintenir le même rapport optimal 300CEIP/g d'amidon (18CEIP/g MF) quel que soit la charge du milieu.

- Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N) pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu avec 2.4 ml d'iodine (0,001N).

Le prélèvement révélé à l'iodine est aussi dilué au 1/5 afin de bien visualiser les matières en suspension. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacé au jaune (couleur du réactif) **(Figure II-6).**

NB : Nous avons préparé pour chaque concentration quatre Erlens liquéfiés ce qui revient à un volume total de 400ml.

Résultats et Discussion :

Toutes les concentrations ont aboutis à une hydrolyse totale de l'amidon après 1h30 à 2h de traitement. Cependant, il faut noter que les broyats les plus concentrés en matières fraiches **(100g/100ml et 200g/100ml)** sont plus onctueux ce qui a interféré l'agitation. Une amélioration de l'agitation a été réalisée en agrandissant le volume des erlenmeyers, ce qui a limité les temps d'hydrolyse à 2H avec toutes les charges testées (**Figure II-6)**.

En Conclusion, un rapport E/S =300 CEIP/g d'amidon (18 CEIP/g MF) est efficace quel que soit la charge du milieu à condition dassurer une bonne agitation du milieu. Un résultat similaire a été trouvé par **Cherifi. N et Bennaissa. F, 2020 [70]** ainsi que **Khelilcherfi. Z et Sadfi**. **N, 2021 [69].**

Le mode d'agitation par secouage au bain marie est incompatible avec les grandes charges du milieu. Une agitation rotative est souhaitable dans ce cas, ce qui permet de traiter de grosses charges et des volumes plus élevés.

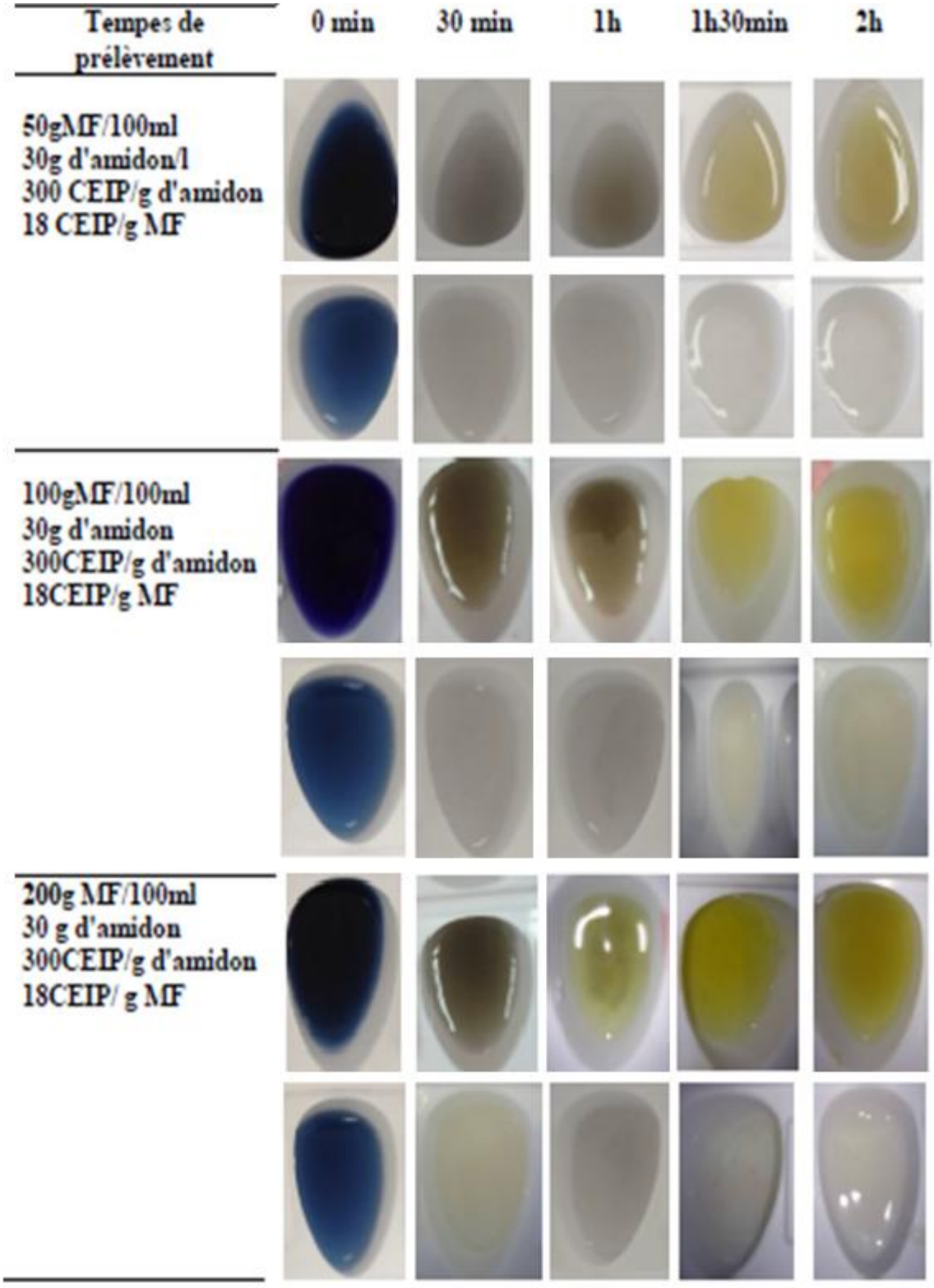


Figure II-6 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/l dispersées à 130°C.

II.3.2. Saccharification :

Cette partie a pour objectif de terminer l'hydrolyse des épluchures de pomme de terre déjà liquéfiées par l'alpha-amylase. Le traitement de l'amidon donne des dextrines qui seront par la suite attaqués par la glucoamylase qui libère du glucose.

II. 3.2.1 Détermination du rapport E/S :

Objectif :

Selon une étude approfondie réalisée par **Khelilcherfi. Z et Sadfi. N, 2021 [69],** la saccharification, exercée à pH=4, à unetempérature de 50°C sur des suspensions liquéfiées aboutis à desrendements de dégradation appréciables maximum (88% et 95%) pour le rapport 0,83 g de glucoamylase/gamidon liquéfié **(50mg/g MF** liquéfiées) même en milieux chargés en matières fraiches (pouvant aller jusqu'à **200g MF/100ml).**

Il faut signaler que nous avons travaillé avec la même glucoamylase (même lot). Cette dernière pourrait perdre une partie de son activité durant deux ans de conservation. C'est la raison pour laquelle nous avons opté pour la détermination du nouveau rapport (E/S) optimal qui donne un rendement de saccharification satisfaisant sans gaspillage de l'enzyme.

Méthode :

- Préparer six suspensions de **50g MF/100ml** (soit **30g/l** en amidon) dispersées à 130°C pendant 15min, broyées et liquéfiées.
- Passer à la saccharification : des quantités de glucoamylase ont été ajoutées aux suspensions après rectification du pH à 4 et stabilisation de la température à 50°C : **1.5g/100ml (15g/l), 2g/100ml (20g/l), 2.5g/100ml (25g/l), 3g/100ml (30g/l), 3.5g/100ml (35g/l) et 4g/100ml (40g/l).** La saccharification a été réalisée au bain marie sous agitation à pH =4; à 50°C pour une durée de temps de 3H. Durant ce temps, des prélèvements ont été réalisés à des temps définis afin de doser le glucose libéré selon la méthode décrite en **Annexe 2**.

Résultats et Discussion :

L'α–amylase est efficace pour réduire l'amidon en plus petites chaines mais elle n'est pas capable de terminer l'hydrolyse jusqu'aux sucres fermentescibles. Il faut donc utiliser le processus de saccharification par la glucoamylase qui transforme les sucres complexes issus de la liquéfaction (Dextrines) en sucres plus simples tels que le glucose.

A partir des résultats **(Figure II-7)**, nous avons une libération importante de glucose dans le milieu. La concentration en glucose est maximale à partir de 2 heures et elle varie entre **13g/l**

(pour une concentration en glucoamylase de **15g/l**) et **26g/l** (pour une concentration en glucoamylase de **30g/l**).

La concentration en glucose est maximale à partir d'une concentration en glucoamylase de **30 g/l** soit un rendement de 78%. Ce rendement est calculé en tenant compte de la concentration de glucose calculée à partir d'une quantité d'amidon de **30 g/l** (soit **33,3 g/l**). La quantité d'amidon dans les épluchures de la pomme de terre est plus au moins variable selon la nature de la pomme de terre utilisée et aussi selon la méthode d'épluchage. C'est la raison pour laquelle, la quantité de glucose libérée peut diminuer selon le mélange traité ce qui abaisse le rendement calculé de saccharification. Une quantité moyenne de glucoamylase est prise pour la suite de notre travail (soit une concentration de **35g/l** et donc un rapport de 1,16 g de glucoamylase /g d'amidon liquéfié) **(0,07g/g MF)** afin de tenir en considération la variabilité de ce déchet.

Il faut dire que ce rapport est important car il résulte de la perte d'activité de la glucoamylase durant sa conservation (depuis 2016).

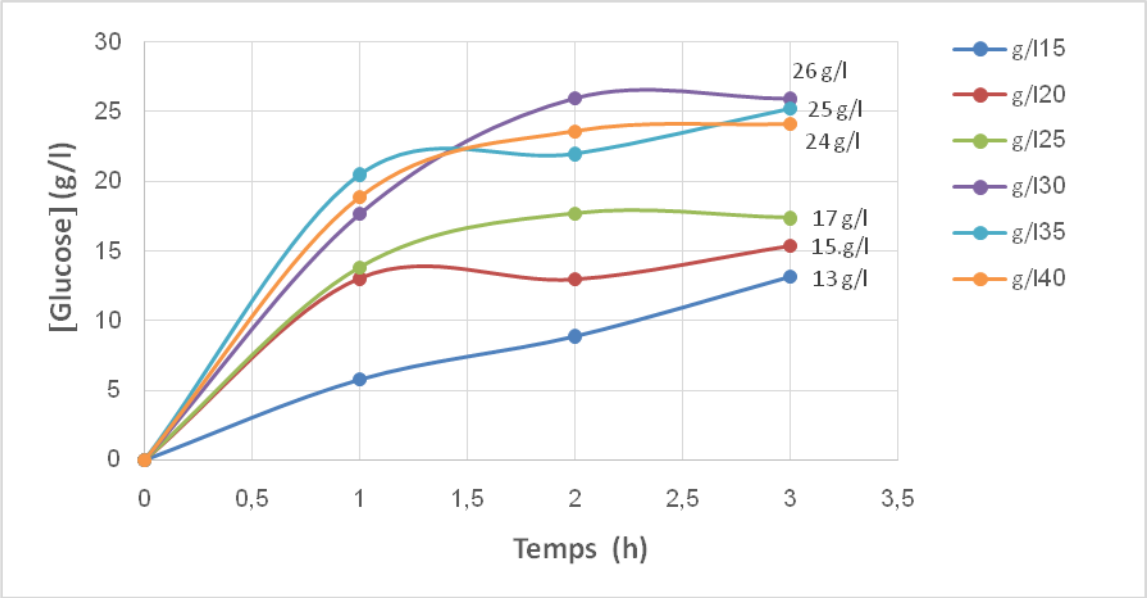


Figure II-7 : Saccharification des épluchures de pomme de terre (50g MF/100ml), traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en variant la concentration de la glucoamylase.

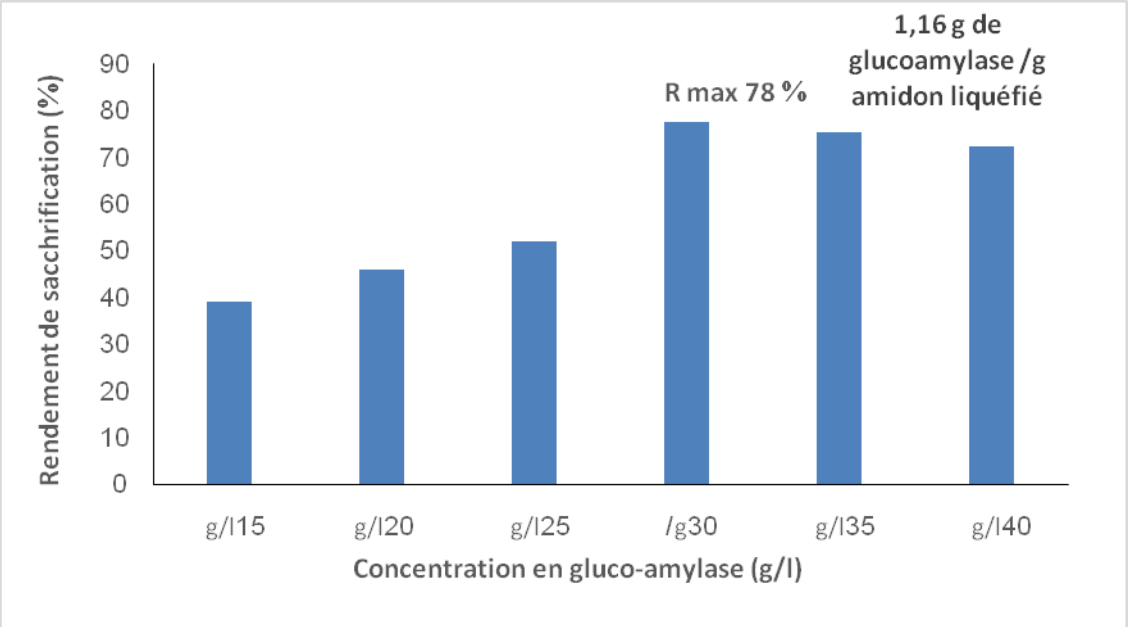


Figure II-8 : Rendement de saccharification des épluchures de pomme de terre (50g MF/100ml), dispersées et liquéfiées en variant la concentration de la glucoamylase.

.

II.3.2.2 Saccharification avec le rapport E/S optimal :

Apres avoir fixer la quantité d'enzyme nécessaire pour la saccharification, nous avons appliqué le rapport optimal actuel à la saccharification des 3 concentrations d'épluchures.

Méthode :

Nous appliquons la même méthode de saccharification précédente pour les trois charges des suspensions traitées thermiquement, broyées et liquéfiées : **50g MF/100ml, 100g MF/100ml** et **200g MF/100ml**.Les suspensions sont additionnées en glucoamylase à **3,5g/100ml, 7g/100ml**, **14g/100ml** respectivement, ce qui maintien le rapport E/S à 1,16 g de glucoamylase /g d'amidon liquéfié **(0,07g/g MF)**. Les trois charges sont liquéfiéesdurant trois heures. Un seul prélèvement final a été réalisé pour la charge la plus faible **(50g MF/100ml).** Pour les deux charges supérieures un prélèvent à 2 heures de saccharification a été réalisé afin de voir si le plateau est atteint à partir de ce temps.

NB : Nous avons préparé pour chaque concentration quatre erlens liquéfiés et saccharifiés ce qui revient à un volume total de 400ml.

Résultats et discussion :

Notre but est de savoir si la glucoamylase est inhibée en milieu chargé par le produit issu de son hydrolyse : le glucose. Les résultats obtenus sont représentés sur la **(Figure II-9)**. Les quantités de glucose libérées sont proportionnelles à la charge du milieu. Plus la charge en

épluchures est importante, plus les concentrations enregistrées en glucose sont importantes : (**56g/l** pour **100g MF/100ml** et **167g/l** pour **200g MF/100ml**). Pour les deux charges testées, la concentration en glucose atteint son plateau à partir de 2h, traçant une cinétique similaire à celle enregistrée pour la plus faible charge (**50g MF/100ml**). Les rendements saccharification sont satisfaisants (99% et 84% pour **50 g MF/100ml** et **100g MF/100ml**) **(Figure II-10)**. Le rendement de saccharification dépasse légèrement le 100% pour la plus grande charge (**200gMF/100ml**). Ceci pourrait être dû à l'augmentation du taux d'amidon au niveau de cet échantillon (au-delà de 6%). La variabilité de la charge des épluchures en amidon (parfois supérieure à 6%, ne dépasse pas 7%) surestime le rendement de saccharification ; car ce dernier est calculé à partir de la quantité moyenne libérée à partir d'un pourcentage moyen en amidon (6%).

En conclusion, la glucoamylase fonctionne bien en milieu chargé et elle n'est pas inhibée par des concentrations élevées en glucose ; à condition que le milieu soit bien agité.

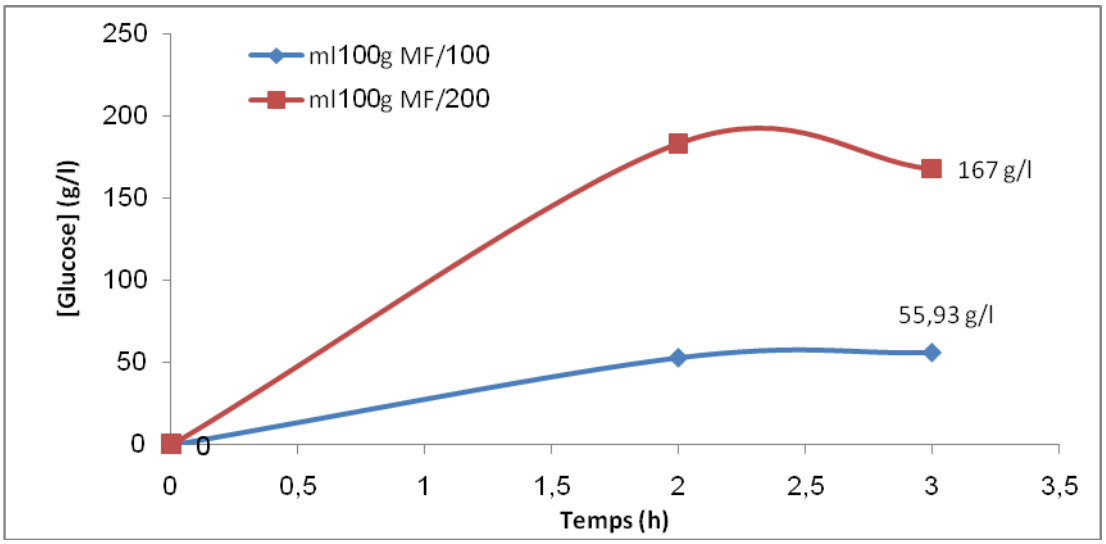


Figure II-9 : Saccharification des épluchures de pomme de terre (100g MF/100ml, 200g MF/100ml) traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en utilisant de la glucoamylase au rapport E/S optimal.

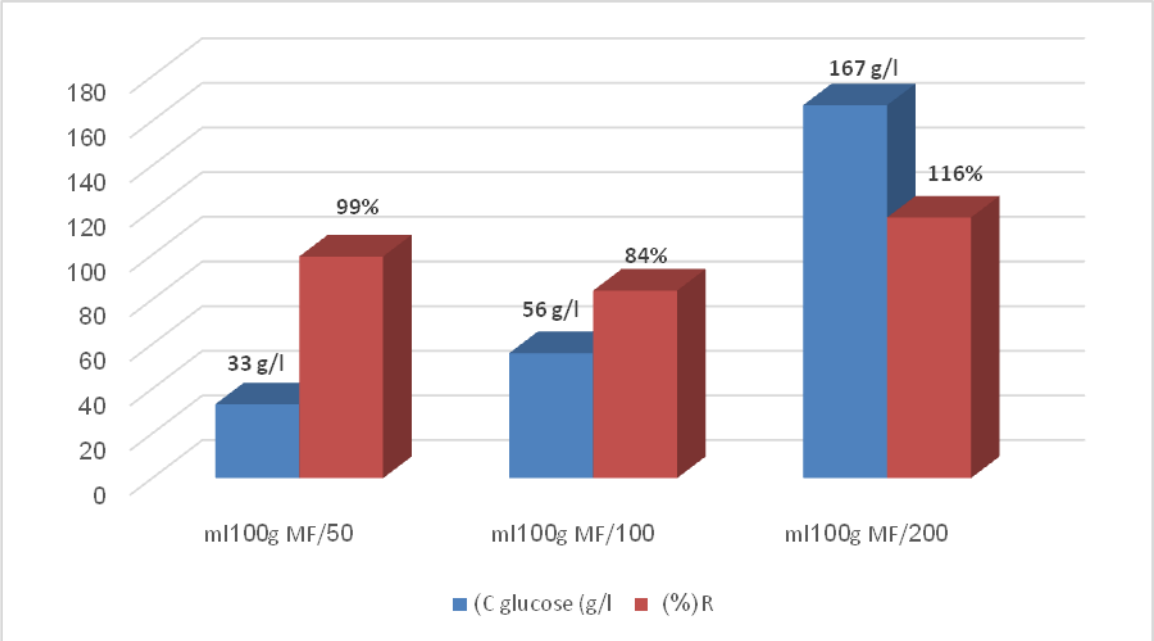


Figure II-10 : Concentration finales en glucose et rendements de saccharification obtenus pour les différentes charges (50g MF/100ml, 100g MF/100ml, 200g MF/100ml).

II.3.3. Fermentation et séparation de l'éthanol :

II.3.3.1. La fermentation :

La fermentation consiste à la production de bioéthanol en utilisant la levure*Saccharomyces cerevisiae* à partir des sucres fermentescibles libérés après liquéfaction etsaccharification de l'amidon contenu dans les épluchures de pommes de terre.

Méthode :

Pour pouvoir effectuer des prélèvements sans diminuer considérablement le volume totale du milieu, nous avons préparé pour chaque charge testée **(50g MF/100ml, 100g MF/100ml, 200gMF/100ml)** 4 suspensions de 100ml. Apres traitement thermique, broyage, liquéfaction et saccharification, les suspensions sont mélangées. Le pH est ajusté à 5 et le mélange est autoclavée à 120°C pendant 20min. Ce mélange est considéré comme milieu de culture destiné à la fermentation : il n'est pas additionné de sources d'azote, ni de source de phosphore, car les épluchures contiennent des éléments qui peuvent servir de sources alternatives.

Le milieu est ensuite ensemencé devant un bec bunsen par 4g de levure boulangère, et mis sous agitation dans un agitateur secoueur. Pendant la fermentation des prélèvements de (10-15ml) ont été réalisés afin de déterminer : le pH, la biomasse sèche, la concentration du substrat (Glucose). Lorsque le glucose est complètement consommé, nous jugeons que la fermentation est terminée.

Résultats et discussion :

Il faut signaler que toutes les charges ont été traitées dans les conditions optimales : Elles sont bien liquéfiées et saccharifiées avec des rendements appréciables, donc le taux, le rendement de production d'éthanol ainsi que la durée de Fermentation dépondent uniquement de la richesse du milieu de production en glucose et en facteurs favorisant cette fermentation. La qualité de la levure : organisme de bioconversion joue aussi son rôle.

L'évolution des différents paramètres mesurés : pH, concentration en glucose et la masse sèche durant la fermentation des trois charges est représentés sur le **Figures II-11.**

Lorsque le milieu de fermentation est issu de la saccharification des épluchures à **50g/100ml (500g/l)**, la concentration initiale en glucose (**33.06 g/l**) diminue significativement à **4.96g/l** au bout de **17h** donnant un taux de conversion **85%**. Le pH a diminué légèrement et la masse sèche est restée constante au bout de **17h** de fermentation. Pour des raisons pratiques de laboratoire, ce milieu a été distillé au-delà de **24h** après avoir été conservé à 4°C durant toute une nuit. Cela a permis la consommation de la concentration résiduelle en glucose.

Lorsque le milieu de fermentation est issu de la saccharification des épluchures à **100g/100ml (1Kg/l)**. La concentration initiale en glucose est plus importante **55 g/l**. Cette dernière diminue significativement à **43 g/l** à **5h** (avec un taux de conversion **22 %**) puis diminue à **0.23 g/l** à partir de **24H** (avec un taux de conversion **99%**). Le pH a diminué de **5,2** à **4,95** et la masse sèche a augmenté légèrement au bout de **24h** de fermentation (de **34g/l** à **37g/l**).

Durant ces fermentations, la biomasse sèche est restée pratiquement stable. L'explication la plus probable est que l'augmentation de la biomasse est équilibrée par la diminution des matières sèches au cours de leur hydrolyse, ce qui donne une impression que la biomasse sèche globale est stable. Une autre explication est aussi possible : c'est que nous avons un effet limitant de la source d'azote, le taux de croissance est dans ce cas bas. La levure est vivante et elle ne fait que de la conversion du glucose en éthanol avec une croissance minimale.

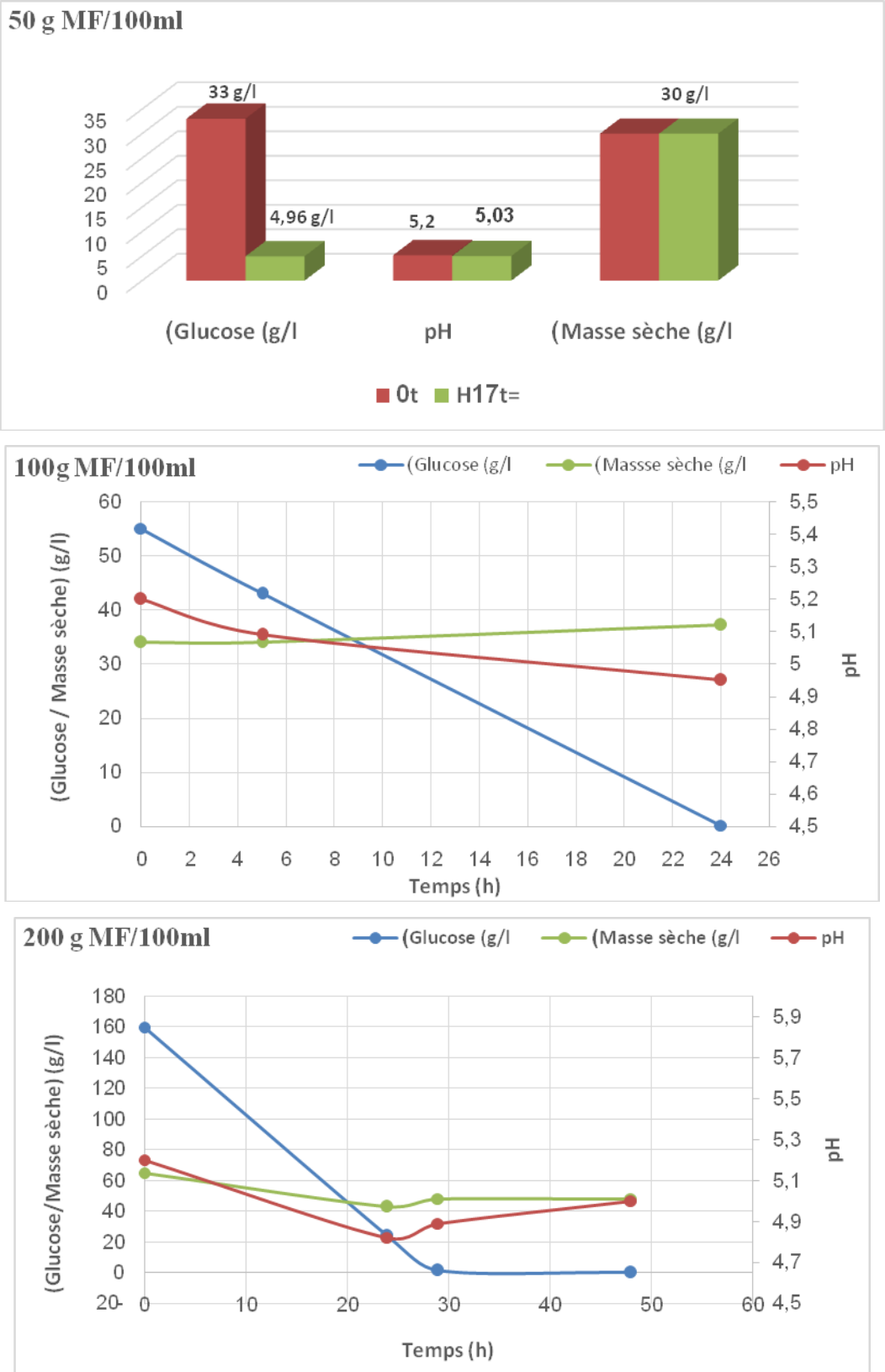


Figure II-11 : Evolution des différents paramètres mesurés (S, pH et X) durant la fermentation des charges (50g, 100g, 200g) MF/100ml liquéfiées et saccharifiées.

Lorsque le milieu de fermentation est issu de la saccharification des épluchures à**200g/100ml** (2Kg/l), la concentration initiale en glucose (**160g/l)** diminue au bout de **24h**à **21.42/g/l**, donnant un taux de conversion de **87%**. Durant cette période, la biomassea diminué de façon significative, nous avons probablement une consommation de la matière ensuspension et qui n'a pas été suffisamment compensée par la division cellulaire, ou une croissance minimale due à unelimitation en source d'azote. Durant cette période, le pH a diminué significativement attestant une bonne croissance (de 5,2 à 4,8**)**. A **29h** le taux de glucose était bas (**1,26 g/l**, taux de conversion de **99%**), le pH ainsi que la biomasse sont stabilisés indiquant un état stationnaire de la croissance. Le milieu est ainsi distillé à 48h (taux de glucose=0).

II.3.3.2. Séparation du produit- Méthode :

Méthode :

Lorsque la fermentation est terminée. Le moût est placé dans un ballon et chauffé aux environs de 78°C **(Figure II-12)** afin de le distiller l'éthanol et le séparer de l'eau (température d'ébullition ≈90°C). La quantité de l'éthanol dans le distillat est déterminée par réfractométrie **(courbes d'étalonnage en Annexe 02)**.

Afin de déterminer l'efficacité de notre montage de distillation, nous avons commencé par l'établissement de son rendement de séparation en utilisant des solutions d'éthanol de masses et de titres massiques connus. Cette procédure permet d'estimer la grandeur des pertes.



Figure II-12 : Montage de distillation

Résultats et discussion :

A/ Contrôle de la méthode d'extraction : Détermination du rendement de la distillation :

Le **Tableau II-2** représenteles masses des fractions distillées, les masses des distillats obtenus avec leurs indices de réfraction, leurs pourcentages massiques et leurs contenus en éthanol.

Pour une première expérience, la sortie du réfrigérant était hermétiquement connecté à un erlenmeyer (à travers un coude) qui récoltait le distillat, ce qui a provoqué une augmentation de la pression et déperdition des vapeurs d'éthanol ce qui abaissé le rendement à 76%.

Dans une deuxième expérience nous avons dégagé la sortie du réfrigérant qui égoutte l'éthanol dans un erlenmeyer situé au-dessous et mis dans un bain glacé **(Tableau II-3)**.Nous avons dans ce cas un abaissement de la pression et les pertes sont nettement limités ce qui a amélioré le rendement de distillation à 97%.

Tableau II-2 : Bilan de distillation de l'éthanol avec calcul du rendement (Essai 1).

	Fraction distillée	**Distillat**
La masse (g)	143,478	107.473
L'indice de réfraction	1,355	1.3555
Pourcentage massique (%)	41,6%	42,6%
Masse (g)	59,68 g	45,78 g
Le Rendement (%)	(45,78 g /59,68 g) *100=76,71%	

Tableau II-3 : Bilan de distillation de l'éthanol avec calcul du rendement (Essai 2).

	Fraction distillée	**Distillat**
La masse (g)	152,26	82,57
L'indice de réfraction	1,3515	1.365
Pourcentage massique (%)	34,6%	61,6%
Masse de l'éthanol (g)	52,68	50,86
Le Rendement (%)	(50,86 g /52,68 g) *100=96,5%	

B/ Dosage du Bioéthanol récupéré :

Les distillats récupérés pour chaque fermentation sont pesés. Nous avons aussi déterminé leurs indices de réfraction. Le bilan global de chaque fermentation est représenté sur le **Tableau II-4**.

Tableau II-4 : Données relatives aux distillats obtenus pour la fermentation des trois charges d'épluchures de pommes de terre.

	Distillat-fermentation 50g MF/100ml	**Distillat-fermentation 100g MF/100ml**	**Distillat-fermentation 200g MF/100ml**
Masse distillat (g)	19,74	25,58	75,52
Indice de réfraction	1,3525	1,3615	1,36
P (%) massique	36,6	54,6	51,6
Masse du bioéthanol (g)	7,23	13,97	38,97
Volume du bioéthanol (ml)	9,16 ml	17,70 ml	49,39 ml
Concentration finale dans le mout de fermentation	18,08 g/l 23 ml/l 2.3%	34,93= 35 g/l 44,26 ml/l 4,44%	97,42 g/l 123,47ml/l 12,35%
Y (P/S) (g bioeth /g de glucose)	0,548	0,635	0,61

Les concentrations finales ainsi que les rendements de bioconversion sont maximales et concordent parfaitement avec ceux trouvés par **Khelilcherfi. Z et Sadfi. N, 2021 [69].** Pour les deux charges élevées le rendement de bioconversion dépasse le rendement théorique **(0,61-0,63 g/g),** car ces derniers sont calculés en tenant uniquement en considération la concentration de glucose libérée au cours de la saccharification. La source de carbone libérée à partir de la lyse de la matière sèche (**Figure II-11**) ou à partir des chaines glucidiques non saccharifiées pourrait être la source d'une quantité d'éthanol supplémentaire.

En considérant les trois charges, nous avons produit un volume de **76,25 ml** d'éthanol pure pour **1,4 kg** de matière fraiche. Ce qui reviens à **54,5ml/kg MF**.

En considérant la charge maximale liquéfiée, saccharifiée et fermentée, une concentration de **2Kg MF/l** produit **97g Ethanol/l** soit **123,47ml/l (12,35%)** en moins de **48h**, ce qui correspond à un rendement réel **Y(P/MF) de 48,5g/Kg MF** soit un volume en éthanol pure de

61,5ml /Kg MF. Une tonned'épluchures produit donc **61,5 litres** d'éthanol pure. Ce rendement est non négligeable vu qu'ilest obtenu à partir d'un déchet.

Le rendement réel Y(P/MF) et les concentrations obtenues dans le mout de fermentation dépendent de la richesse de la pomme de terre en amidon et en matières sèches. Certains auteurs ont pu obtenir des taux plus élevés mais à partir de déchets plus riches en matières sèches :

- ✓ **Bekele. A et al,2015 [73]** ont produit de l'éthanol à partir des épluchures de pommes de terre à 87% de matière sèche. La concentration la plus importante est 42,5% (v/v) d'éthanol a été obtenue à partir de la culture d'***Apergillus niger*** et de levure de bière suivant une méthode séquentielle d'hydrolyse et de fermentation.
- ✓ **Sunao. Y et al ,2009 [74]** ont pu obtenir une concentration de **50 g/l** à partir d'une suspension de 12% de déchets de pomme de terre Fraicheliquéfiés et saccharifiés en utilisant une combinaison de trois enzymes : alpha-amylase, pectinase et glucoamylase.,
- ✓ **Memon. A. A et al 2017 [75]** ont pu produire **90 ml** d'éthanol à partir de **800 g** de pomme de terre traitée thermiquement, puis hydrolysés et fermentés par une alpha amylase et la levure au même temps.

En considérant que l'augmentation de l'échelle se fait avec les mêmes rendements et la même productivité, une charge de **2 tonnes/m^3** produit **123 litres** d'éthanol pour une durée de temps global de 48 heures (entre liquéfaction, saccharification et fermentation). En ajoutant 24 heures de maintenance le temps nécessaire pour un batch est de 3jours. Sur 300 jours (une année) nous pouvons réaliser 100 cycles de production pour une capacité de production de 123 litres/cycle. Le volume global d'éthanol produit par année est de **12300 litres càd 12,3 m^3 /année**.

Une exploitation rationnelle et totale de la fraction glucidique de ce déchet (6% amidon et 6% résidus principalementcellulosique), peut encore améliorer nettement ce rendement dans un future proche. Pour cela, l'usage d'un mélange d'enzyme (alpha-amylase, glucoamylase, cellulase, pectinase) est préconisé dans un future proche afin d'améliorer l'exploitation de ce déchet. Dans la bibliographie des auteurs ont utilisé diverses méthodes de prétraitement afin d'exploiter la fraction glucidique de la pomme de terre (totale ou épluchures) :

- **Bekele. A et al, 2015 [73]** ont essayé la liquéfaction et la saccharification microbienne en utilisant ***Aspergillus niger*** et des espèces de ***Bacillus*** afin de produire l'éthanol à partir des épluchures de pommes de terre (à 87% de matière sèche). La fermentation se fait par ***S cerevisiae*** soit en cultures mixtes ou séquentielles avec ces microorganismes.

- **NWAGA. D et al 2008 [76]** ont trouvé que la méthode d'hydrolyse la plus efficace de l'amidon de manioc est mixte (enzymatique + chimique) avec rendement 82% à 86 %, la méthode la moins efficace est l'hydrolyse chimique avec un rendement de 31%.
- Pour **Sunao. Y et al 2009 [74]** les déchets de pommes de terre sont liquéfiés et saccharifiés en utilisant des enzymes : alph-amylase, pectinase et glucoamylase. A partir d'une suspension de 12% de pomme de terre Fraiche, la combinaison des trois enzymes augmente la concentration de l'éthanol produit de **20g/l** (en utilisant chaque enzyme seule) à **50 g/**l. Ceci est dû à la libération des sucres non fermentescibles et qui deviennent accessibles à la bioconversion en éthanol.
- **Arapoglou. D et al 2010 [77]** ont utilisé 3 enzymes :
  - ✓ Une Beta-Glucanase (Viscozyme) à partir *d'**Aspergillus aculeatus*** (30°C, pH 5, 30 min),
  - ✓ Une amylase thermostable (Ternamyl) à partir de ***B. licheniformis***.
  - ✓ Une autre alpha-amylase thermostable (Liquozyme Supra) de ***Bacillus lichneniformis***
  - ✓ Une cellulase de ***Trichoderma reesei***.

II.4 Analyse de l'éthanol récupéré :

Les trois distillats sont mélangés et redistillés afin d'augmenter la concentration de l'éthanol. Nous avons obtenu un distillat global ayant les caractéristiques enregistrées sur le **Tableau II-5**

Tableau II-5 : Données relatives au distillat global

	Caractéristiques
Masse distillat (g)	97.034
Volume distillat (ml)	104,6
Indice de réfraction	1.362
P(%) massique	56
Masse de bioéthanol (g)	54.33
Rendement des distillations (%)	(54.33/60.17) *100=90%
Volume de l'éthanol pure (ml)	68ml/76ml
Densité	0.9
Aspect	Incolore, transparent par comparaison avec l'eau
Odeur	Caractéristique de l'éthanol
pH	6.44

Il faut signaler que la densité (0,9) confirme une fois de plus le titre massique de notre distillat (56%) **(Courbe d'étalonnage Khelilcherfi. Z et Sadfi.N,2021 [69]).** Ce distillat a fait objet de tests d'identification.

II.4.1. Tests d'identification :

II.4.1.1. Le test au dichromate de potassium :

En milieu acide l'éthanol (CH3-CH2OH) est oxydé en Acide acétique (CH3-COOH) en présence de dichromates (Cr_2O7^{-2}). Ces derniers subissent une réduction en ions Cr^{3+} responsables de la coloration vert foncé de la solution.

Test :

Dans un bécher, mélanger 10ml de distillat et 20ml d'une solution de dichromate (0.1M) avec 20ml d'acide sulfurique à 25%. Observer le changement de la couleur.

Résultat :

D'après la (**Figure II- 13)**, après ajout du réactif de bichromate de potassium, nous avons un virage de la couleur de l'orange au vert qui commence avec l'ajout de l'acide sulfurique. La couleur devient plus foncée (vers le bleu) au cours du temps.



(1) **(2)** **(3)**

Figure II-13 : Résultat de la révélation de l'éthanol dans le distillat global au bichromate de potassium.

II.4.1.2. Le Flambage :

On prend un volume de notre distillat dans un verre de montre et on flambe le contenu de ce dernier **(Figure II-14)**. La flamme bleue est un indicateur que l'éthanol est présent dans le distillat avec une concentration suffisante.

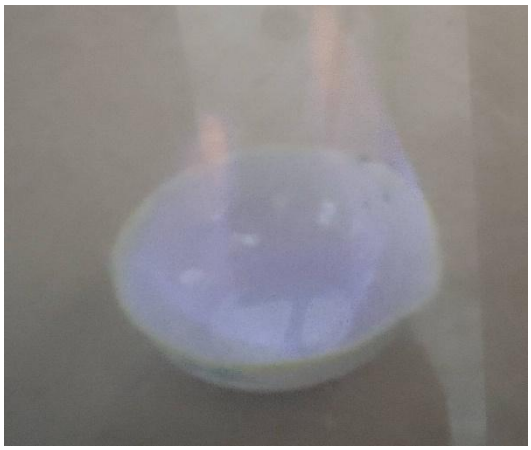


Figure II-14 : Résultat du flambage du distillat.

II.4.1.3. Test d'identification B (selon USP) [78] :

- A **0.5ml** de distillat, ajouter 5ml l'eau distillée bouillie et refroidie.
- Ajouter **2ml** de NAOH (1N).
- Ajouter doucement **2ml** de l'iodine (0.05N).
- Conserver la solution dans un tube, remarquer la formation d'un précipité jaune à partir de 30min.

Résultat : Après 30min nous avons obtenu un précipité jaune attestant la présence de l'éthanol (**Figure II-15**).

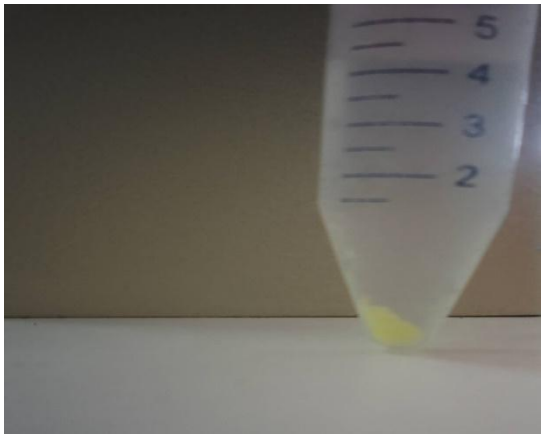


Figure II-15 : Résultat du test d'identification B.

II.4.1.4. Le spectre Infrarouge :

L'analyse du spectre de notre distillat **(Figure. II-16)** avec comparaison par rapport à celui d'une molécule de référence : Ethanol 97% **(Figure. II-17)**, nous montre qu'il s'agit bien du même produit (Ethanol) puisque nous avons obtenu des pics aux mêmes bandes dans les deux spectres. On parle de :

– La bande d'allongement caractéristique de la fonction OH située à **3350 cm^{-1}** présente dans les alcools (**O-H libre : [3650-3590], O-H lié (liaison H) :** bande large à **[3500-3100]).**

– La bande de déformation caractéristique de la fonction OH à **1385cm^{-1}** présente dans les alcools primaires (**O-H (alcool primaire) : [1350-1260]).**

– La bande d'allongement caractéristique de la liaison C-H à **(2897 et 2977) cm $^{-1}$**. La bande située à 1385cm $^{-1}$ peut être aussi celle de déformation correspondante à la liaison C-H. (**C-H des chaînes aliphatiques et des groupements CH3** : **[3000-2840]** et **[1450-1375]).**

– La bande de la liaison –C-O présente dans les alcools primaires à **1085,32 cm^{-1}/1043,98 cm^{-1}(C-O des alcools primaires : [1085-1050]).**

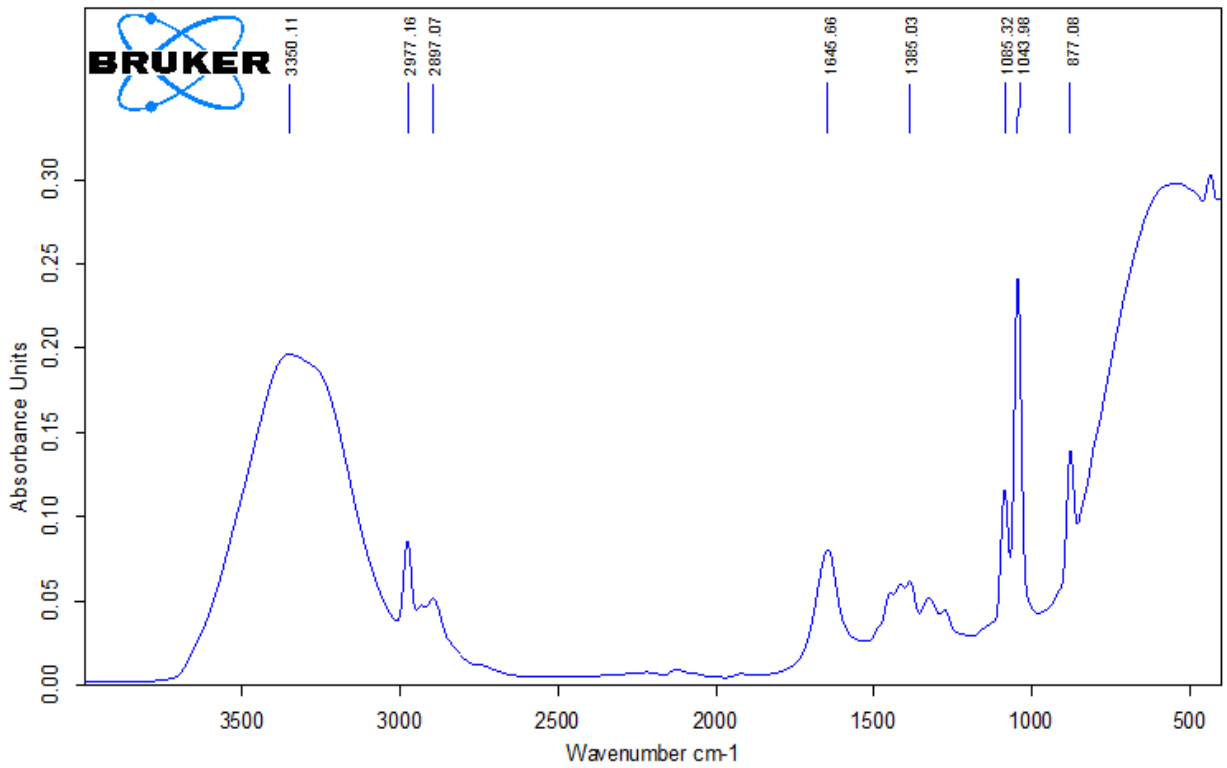


Figure II-16 : Spectre infrarouge du distillat.

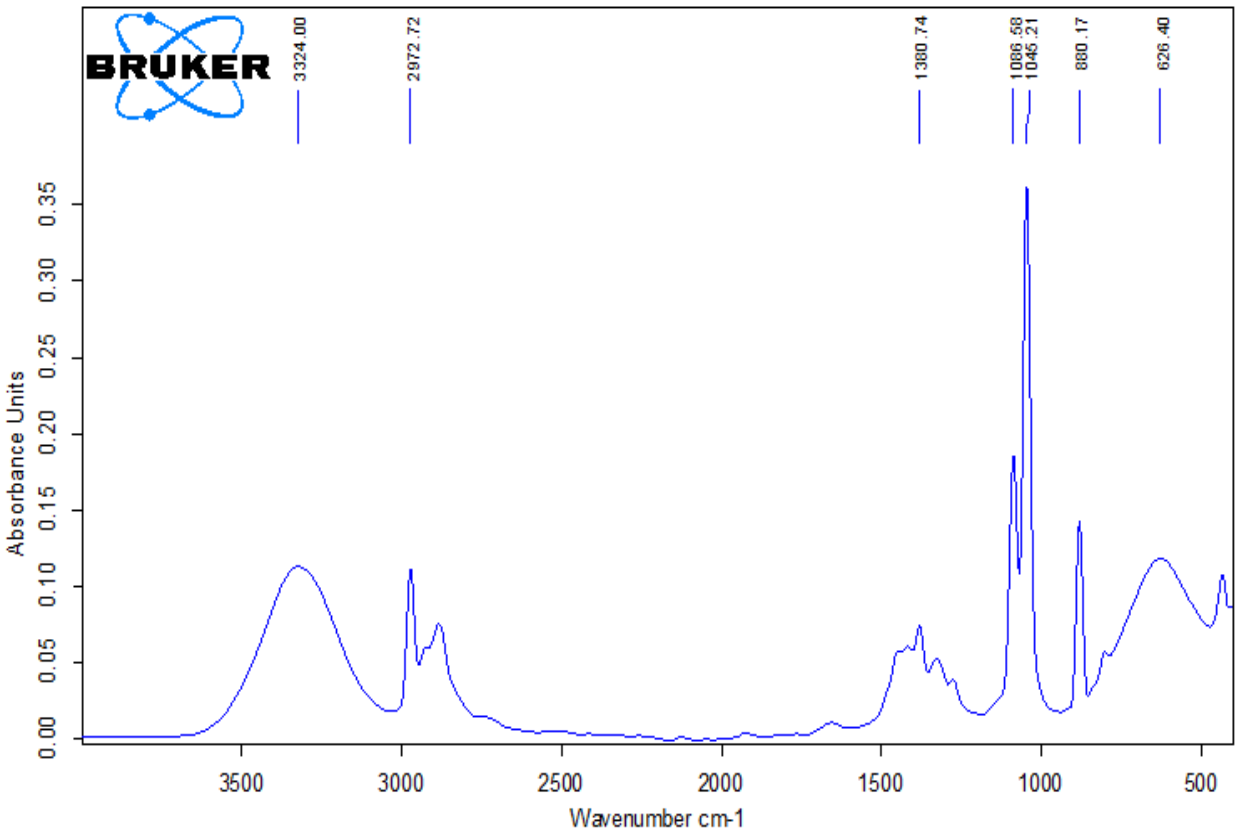


Figure II-17 : Spectre Infrarouge d'un éthanol (96%).

II.4.2. Tests de qualité :

II.4.2.1. Absorbance dans le domaine ultra-violet :(selon USP) [78]

Il s'agit d'un test d'identification et de qualité en même temps. Mesurer l'absorbance entre **240 nm** et **340 nm** contre le blanc eau distillée. Le spectre doit présenter une courbe progressive sans aucun pic avec les limites des absorbances suivantes (**Tableau I-6)** :

Tableau I-6: Normes des absorbances dans le domaine de l'UV de l'éthanol (96% v/v) (92,6 % m/m) selon USP [78]

λ (nm)	DO
240	≤ 0.4
250-260	≤ 0.3
270-340	≤ 0.1

Résultat :

Nous avons mesuré l'absorbance de notre distillat entre **240-340 nm**. Nous avons obtenu les résultats suivants :

Tableau I-7 : Absorbances dans le domaine de l'UV obtenus pour le distillat.

λ (nm)	DO
240	0
250	0.01
255	0.02
260	0.03
270	0.06
306	0.12
340	0.11

Dans l'ensemble, notre distillat répond aux normes exigées par la pharmacopée européenne et l'USP. Cependant, ces normes correspondent à un éthanol **(96% v/v) (92,6 % m/m)** alors que notre distillat est à 56% massique (58% volumique). Pour pouvoir juger sa conformité, il faut le concentrer encore une autre fois : opération impossible devant les moyens disponibles limités.

II.4.2.2Test de l'Acidité (selon USP) [78] :

Dans un bécher mélanger **2 ml** de distillat et **2 ml** l'eau distillée bouillie et refroidie et **0.1 ml** de phénolphtaléine, Ajouter **0.1 ml** de NaOH (0.01N). Observer le changement de la couleur. Nous jugeons que l'acidité est ≤ 30ppm exprimée en acide acétique si la couleur est rose.

Résultat :

La couleur est rose après addition de **0,3ml** de NaOH (0.01N) (**Figure II-18),** notre distillat ne répond pas aux normes exigées par la pharmacopée européenne ainsi que l'USP, pour un éthanol (96% v/v) (92,6 % m/m), car il est dilué (56% massique, 58% volumique).



Figure II-18 : Résultat de Test de l'Acidité.

II.4.2.3. Test de sensibilité bactérienne au distillat :

Nous avons réalisé un test de l'activité antibactérienne de notre distillat. Une souche test a été ensemencée en nappe sur le milieu Mueller et Hinton par écouvillonnage. Des disques en papier de 6mm sont imbibés par le distillat et déposés à la surface du milieu ensemencé. La culture est incubée à 37°C pendant 24h. La présence de zones d'inhibition indique que le distillat testé possède une action antibactérienne. La souche testée est *Staphylococcus aureus* ATCC6538.

Résultat :

Les distillats ayant des pourcentages massiques faibles n'ont pas d'activité. Une activité réelle est enregistrée à partir d'un pourcentage 70 % (v/v). Nous avons noté de faibles zones d'inhibition avec notre distillat, ceci est due à son pourcentage massique qui est de 56% massique (58% volumique) (proche de 60%) **(Figure II-19)**

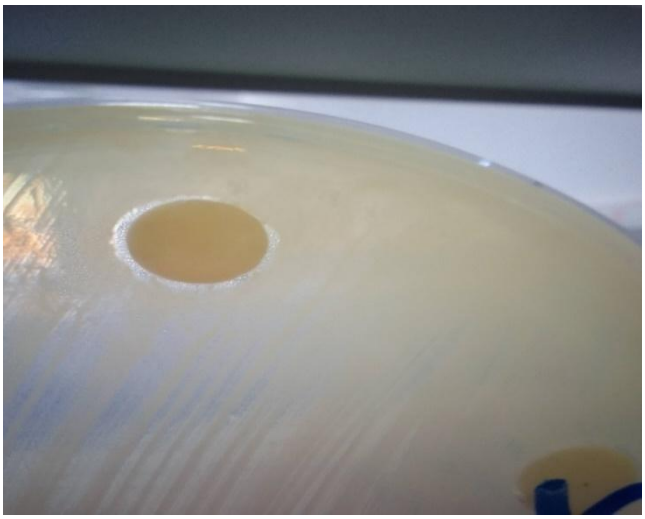


Figure II-19 : Résultat test de la sensibilité de *S aureus* vis-à-vis du distillat.

En résumé, nous avons essayé de prouver l'identité du produit : tous les tests qualitatifs convergent vers son identité comme étant un éthanol. Cependant, pour pouvoir juger sa conformité par rapport à la pharmacopée européenne ou par rapport aux normes exigées pour un biocarburant, il faut tout d'abord le concentrer et le déshydrater. Il faut aussi passer à une échelle plus grande afin d'obtenir des volumes importants de distillats purs pour pouvoir réaliser tous les tests de conformité (CPG pour déterminer les éléments présents à l'état de traces, …).

CONCLUSION

Conclusion générale

L'amidon de pomme de terre issu des déchets de la consommation quotidienne de la pomme de terre a été utilisé pour la production du bioéthanol. Le choix de épluchât de la pomme de terre est justifié par son abondance en Algérie.

Nous avons commencé notre travail par une caractérisation des épluchuresde pomme de terre. Il s'agit d'une ressource très riche en eau (87%). La quantité de matières sèches constitue 13% dont 6% représente l'amidon.

La première étape de ce procédé est la liquéfaction qui consiste à hydrolyser l'amidon en dextrine par une méthode enzymatique en utilisant l'alpha-amylase. Cette opération n'est efficace que lorsque les épluchures de la pomme de terre sont traitées thermiquement sous pression à 130°C pendant 15min. L'amidon est totalement hydrolysé par l'alpha- amylase au bout de **1H30min** à **2H**, dans les conditions optimales suivantes : une température de 55°C, un **pH=6**, un rapport **E/S= 300CEIP/ g d'amidon équivalent à 18CEIP/g MF** quel que soit sa charge dans le milieu d'hydrolyse **(50, 100, 200g MF/100ml).**

La deuxième étape de ce procédé est la saccharification, exercée à pH=4, à une température de 50°C sur des suspensions liquéfiées. Cette opération a abouti à desrendements de dégradation appréciables (une moyenne de 99%) pour le rapport **1,16 g de glucoamylase /g amidon liquéfié (0,07g/g MF liquéfiées)** même en milieux chargés en matières fraiches (pouvant aller jusqu'à **200g MF/100ml**).

Enfin, notre bioéthanol a été produit par fermentation au bout de moins de 48 heures Cette phase s'exerce à température ambiante, à un pHi= 5. Le taux maximal d'éthanol est obtenu pour une charge maximale de **2Kg/l**. Il est de **97,42 g/l (123,47ml/l, 12,3%)** avec un rendement de 0,6 g d'éthanol /g glucose. Ceci correspond à un rendement réel Y(P/MF) de **48,5g/Kg MF** soit un volume en éthanol pure de **61,5ml /Kg MF**. Ce rendement est non négligeable vu qu'ilest obtenu à partir d'un déchet.

En considérant que l'augmentation de l'échelle se fait avec les mêmes rendements et la même productivité, une tonned'épluchures produit donc **61,5 litres** d'éthanol pure et un bioréacteur d'une charge de **2 tonnes/m^3** fonctionnant en mode batch sur **300 jours** produit un volume global d'éthanol estimé de **12,3 m^3 /année**.

CONCLUSION

La production de bioéthanol à partir des épluchures de pomme de terre est non négligeable d'autant plus que notre pays est consommateur de la pomme de terre et que les ressources de ces déchets sont variables : les déchets domestiques, les gargotiers, les restaurants privés, les restaurants hospitaliers et universitaires, les usines de production des chips et purées déshydratées.

En perspective, il faut commencer l'étude à grandes échelles (au moins à l'échelle pilote) afin de prouver la reproductibilité des résultats, et d'obtenir des volumes de distillats plus grands et plus concentrés pour pouvoir analyser correctement notre bioéthanol et savoir par conséquent ces devenir d'utilisation et d'applications : pharmaceutiques ou bioénergétiques.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

[1] Gassara. F, Brar. S .K ,Tyagi, R.D , Verma. M,Surampalli. R.Y. Screening of agro-industrialwastes to produceligninolytic enzymes by Phanerochaetechrysosporium. Biochem. Eng. J. 2010, 49, 388–394

[2] Charles E. Wyman, (1996). Handbook on Bioethanol Production and Utilization: Pp,3 .

[3] Décret n°2002-540,du 18/04/2002, relatif à la classification des déchets, JO du 20 avril 2002,http://www.ineris.fr/aida/?q=consult_doc/consultation/2.250.190.28.8.27.

[4] ADEME (2000).Atlas des déchets en France 2ème édition (données et références). ADEME éditions, Paris, 27 pages.

[5] Directive 91/689/CEE**,** du Conseil, du 12/12/1991, relative aux déchets dangereux. JOCEnºL377du31/12/1991,

http://www.ineris.fr/aida/?q=consult_doc/consultation/2.250.190.28.8.4467.

[6] JMATET ,(2008) **.**" Guide des techniciens communaux pour la gestion des déchets ménagerset assimilés », Alger: p 46 .

[7] Il s'appuie sur un travail de terrain réalisé dans le cadre d'une thèse (2010-2015) (Gatete, 2015) et d'une expertise du CIRAD sur les politiques bioénergies en Afrique subsaharienne avec l'Institut de recherches et d'applications des méthodes de développement (IRAM) et le Hub Rural (2013-2014).

[8]Amirta .R ,Herawati .E,Suwinarti .W, (2016). "Two-stepsutilization of Shoreawoodwastebiomass for the production of oysterMushroom and biogas - A zerowasteapproach". Agriculture and Agricultural Science Procedia, 9.

[9]Chen.H, Fu. X, (2016). "Industrial technologies for bioethanol production fromlignocellulosicbiomass". Renewable and SustainableEnergyReviews. 57.

[10]Datta. A, Mandal. B , K, (2016). "A comprehensivereview of biodiesel as an alternative fuel for compression ignition engine", Renewable and SustainableEnergyReviews, 57.

[11]Özbay. N,Apaydın-Varol . E. Uzun. B, B,(2008). Characterization of bio-oilobtainedfrom fruit pulppyrolysis, Energy, 33(8).

[12] Goyal. H, Seal . D and Saxena. R ,(2008)."Bio-fuels fromthermochemical conversion of renewableresources": A review, Renewable and SustainableEnergyReviews, 12(2).

[13] Girard. P, Fallot. A ,(juin 2006). "Review of existing and emerging technologies for the production of biofuels in developing countries", EnergySustain. Dev.10(2) : p92-108.

[14]Eeckhout. L,V,(28-avr-2015). "L'Europe limite timidement l'usage des agrocarburants nocifs pour la planète", Le Monde.fr.

[15] CEA, " CEA - Jeunes - Médiathèque - Animations Flash - Energies - Les biocarburants de 2ème génération ", www.cea.fr, 29-avr-2013 . [En ligne]. Disponible sur:

http://www.cea.fr/jeunes/mediatheque/animations-flash/energies/les-biocarburants-de-2eme-generation.

[16]Lamire. F, « Biocarburants 1ère, 2ème et 3ème génération », 11-déc-2012. [En ligne]. Disponible sur: http://www.themavision.fr/jcms/rw_340935/biocarburants-1ere-2eme-et-3eme-generation. [Consulté le: 16-oct-2014].

[17] « micro algues, biocarburant de demain ? », calameo.com. [En ligne]. Disponible sur: http://www.calameo.com/read/003086015af9d8f230a9e. [Consulté le: 28-sept-2015].

[18]Dorin .B, Gitz ,V(2008)."Ecobilans de biocarburants :une revue des controversies". Natures sciences societies,(4)16.

[19] CELTON. M ,(2011). "Etude de la réponse de Saccharomyces cerevisiae à une perturbation NADPH par une approche de biologie des systèmes " .

[20] Institut national de recherche et de sécurité (INRS), Éthanol, (Fiche toxicologique n°48) .

[21]Bounoua.F, (2017). "Production de bioéthanol à partir des déchets de l'industrie de transformation de pomme de terre", Université M''HAMED BOUGARA Boumerdès. p, 20-26.

[22]Touzi. A, Azbbès. N, (1988). "Avant-projet de Réalisation d'Unité de Production de Bioalcool".Rapport Intern, Lab. Biotech, Dans les Wilayas de Biskra, Adrar et Ghardaïa, Algérie. P 56.

[23]Syndicat National des Producteurs d'Alcool Agricole`

[24] Brodeur. C, Cloutier. J. Crowley. D, Desmeules. X, Pigeon. S, (2008). "La productiond'éthanol à partir de grains de maïs et de céréales". Centre de référence en agriculture etagroalimentaire du Québec, Publication n° EVC 029.

[25] BERRABAH. A, (2019-2020) .Evaluation des propriétés physico-chimiques et sensorielles d'un yaourt à texture améliorée par l'extrait d'amidon de pomme de terre blanche (Solanumtuberosum).

[26] Mme Boucherba .N,(2014-2015). "Maître de conférences, Valorisation des résidus agro-industriels".

[27] DAVIDOVIC.A ,(2006).Matériaux biodégradable à base d'amidon expansé renforcé de fibres naturelles application a naturelles application à l'emballage alimentaire Thèse Doctorat spécialité physicochimie des polymère , université du Sud Toulon var France :p 201.

[28] WERTZ Jean-Luc, (2011) .l'amidon et le PLA : deux bio polymères sur le marché .

[29]LAURENT . G, (2013) Etude sur la performance Environnementale comparativement aux plastique pétrochimiques , Université de Sherbrooke Canada .

[30]Eliasson . A. C,(1983) .Differential scanning calorimetrystudies on wheatstarch-gluten mixtures. II. Effect of gluten and sodium stearoyllactylate on starchcrystallizationduringageing of wheatstarch gels. J. CerealSci. 1: p 207–213.

[31]Zobel. H. F, Young. S. N. et Rocca. L. A, (1988) a Starchgelatinization: an X-ray diffraction study. CerealChem. 65: p 443–446.

[32]Buléon. A, Colonna, P. &Leloup. V,(1990) Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. IAA. juin 1990: p 515–532.

[33] Whistler. R. L & Daniel. J. R, (1984) Molecular structure of starch. In RL Whistler, JN Bemiller, EF Paschall, eds, Starch: Chemistry and Technology, Ed 2. AcademicPress, New York:p 153–182.

[34] Robin. J, P.Mercier. C, Charbonnieres . R. & Guilbot. A, (1974). Lintnerizedstraches. Gel filtration and enzymaticstudies of insoluble residuefromprolongedacidtreatment of potatostarch. CerealChemistry. 51:p 389–406.

[35]Wertz Jean-Luc **,**(2011)**.**L'amidon et le PLA : deux biopolymères sur le marché. Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4

[36]Multon J.L , 1992 **:** Le sucre, les sucres, les édulcorants et les glucides de charge dans les IAA, Tec et Doc Lavoisier Paris, ISBN 2-85206-702-1

[37] Sani .I , A, Abdulhamid. F, Bello.M,Yahaya et AI Bagudo , 2014:L'isolement, la purification et la caractérisation partielle de l'α-amylase de Bacillus subtilis. Journal de microbiologie et de recherche en biotechnologie Bibliothèque de recherche Scholars J. Microbiol. Biotech. Res, 4 (1) 49-54.

[38] Villette J. 1991 :Relation structure-fonction de la cyclomaltodextrineglucanotransférase de Bacillus circulans E 192. Thèse USTL

[39] Salma.M,Valmis. E and Sicard,D.(2014). "Etude et caractérisation de l'état " Viable mais Non Cultivable " chez Saccharomyces cerevisiae Mohammad Salma To cite this version : HAL Id : tel-00973496 Etude et caractérisrisation de l'état « Viable mais Non N Cultivable » Saccharomyces cerevisiae.

[40] CELTON. M ,(2011). "Etude de la réponse de Saccharomyces cerevisiae à une perturbation NADPH par une approche de biologie des systèmes".

[41] Hansen. C. E, "Scanning electronmicroscopy image of Saccharomyces cerevisiae," 1883. [Online]. Available: https://fr.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae.

[42] Hahn-Hägerdal . B, Karhumaa. K, Fonseca. C, Spencer-Martins. I and Gorwa-Grauslund, M. F. (2007). Towardsindustrial pentose-fermentingyeaststrains, AppliedMicrobiology and Biotechnology 74(5) : p 937–953.

[43] Mohd Azhar. S. H ,Abdulla. R, Jambo. S. A, Marbawi. H. Gansau. J. A, MohdFaik A. A. and Rodrigues. K. F, (2017). "Yeasts in sustainablebioethanol production" : A review, Biochemistry and Biophysics Reports **10** : p 52–61. Zabed, H., Faruq, G., Sahu, J. N., Azirun, M. S., Hashim, R. and Nasrulhaq Boyce, A. (2014). Bioethanol Production from Fermentable Sugar Juice, The Scientific World Journal :p 1– 11.

[44] Cherubini. F and Strømman. A. H, (2011). Chapter 1 - Principles of Biorefining, in A. Pandey, C. Larroche, S. C. Ricke, C.-G. Dussap and E. Gnansounou (eds), Biofuels, AcademicPress, Amsterdam : p 3–24.

[45] Cot. M, Loret. M.-O., Franc¸ois, J. and Benbadis. L, (2007). "Physiologicalbehaviour of Saccharomyces".

[46] Liu. R and Shen. F, (2008). " Impacts of main factors on bioethanol fermentation fromstalkjuice of sweetsorghum by immobilized Saccharomyces cerevisiae (CICC 1308)".BioresourceTechnology.**99**(4) : p 847–854.

[47] Phisalaphong. M, Srirattana. N and Tanthapanichakoon. W. (2006), "Mathematicalmodeling to investigatetemperatureeffect on kineticparameters of ethanol fermentation". Biochemical Engineering Journal .**28**(1) : p 36–43.

[48] Fleet. G. Hand Heard. G. M, (1993). Yeasts-growthduring fermentation, in G. H. Fleet (ed.), Winemicrobiology and biotechnology, HarwoodAcademic, Switzerland:p42–43.

[49] Lin. Y, Zhang. W, Li. C, Sakakibara. K, Tanaka. S and Kong. H, (2012). "Factorsaffectingethanol fermentation using Saccharomyces cerevisiae BY4742". Biomass and Bioenergy. **47**:p 395–401.

[50] Staniszewski. M, Kujawski. W and Lewandowska. M, (2007). "Ethanol production fromwhey in bioreactorwithco-immobilized enzyme and yeastcellsfollowed by pervaporativerecovery of product – Kinetic model predictions". Journal of Food Engineering. **82**(4) : p 618–625.

[51] Barnett .JA, (1976). "The utilization of sugars by yeasts**".** Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry.32: P125-234.

[52] Kappeli. O, (1986). "Regulation of carbonmetabolism in Saccharomyces cerevisiae and relatedyeasts". Advanced MicrobialPhysiology.28:p 181-209.

[53] van Dijken. J, ScheffersW.A,(1986)." Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts". FEMS MicrobiologyLetters. 32:p 199-224.

[54] van Maris .A.J.A, Bakker. B.M, Brandt .M, Boorsma.A, Teixeira de Mattos. M.J, Grivell L.A, Pronk.J.T, Blom J,(2001)."Modulating the distribution of fluxes among respiration and fermentation byoverexpression of HAP4 in Saccharomyces cerevisiae". FEMS YeastResearch.1(2):p139- 149.

[55] Verduyn .C, Postma.E,Scheffers.W.A, Van Dijken J. P,(1992). Effect of benzoicacid on metabolicfluxes in yeasts: A continuous-culture study on the regulation of respiration and alcoholicfermentation. 8(7):p501-517.

[56]Departement Biologie Cellulaire etIntegrative -Equipe. Dujardinhttp://www.cgm.cnrs-gif.fr/dujardin/bm_fr.html .

[57] Olz.R, Larsson.K, Adler . L, GustafssonL,(1993). "Energy flux and osmoregulation of Saccharomyces cerevisiaegrown in chemostatsunderNaCl stress". Journal of Bacteriology. 175(8):p2205-2213.

[58] Vemuri.G.N, Eiteman. M.A, McEwen. J.E, Olsson L, Nielsen J,(2007)."Increasing NADH oxidationreducesoverflowmetabolism in Saccharomyces cerevisiae". Proceedings of the National Academyof Sciences .104(7):p2402-2407.

[59] DekenRH:The CrabtreeEffect: A Regulatory System in Yeast. J GenMicrobiol. (1966). 44(2):p149-156.

[60] vanUrk. H, Schipper.D, Breedveld.G.J, Mak. P.R, Alexander Scheffers. W, van Dijken. J.P,(1989)."Localization and kinetics of pyruvate-metabolizing enzymes in relation to aerobicalcoholic fermentation in Saccharomyces cerevisiae CBS 8066 and Candida utilis CBS 621". Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects.992(1): p78-86.

[61] Postma.E, Verduyn.C, Scheffers.W.A, Van Dijken JP.(1989)."Enzymicanalysis of the crabtreeeffect in glucose-limitedchemostat cultures of Saccharomyces cerevisiae". AppliedEnvironmentalMicrobiology.55(2):p 468-477.

[62] Feria-Gervasio.D, Mouret J.R, Gorret.N, Goma. G, Guillouet. S,(2008). "Oleicaciddelays and modulates the transition fromrespiratory to fermentative metabolism in Saccharomyces cerevisiaeafterexposure to glucose excess". AppliedMicrobiology and Biotechnology. 78(2):p319-331.

[63] Boitard Laurent ,2010 **:** Mesure du métabolisme de la levure par flux ´ osmotiques entre gouttes d'émulsion. These de Doctorat .l'Université Paris VII - Denis Diderot

[64] Soccol. C. R, Faraco. V, Karp . S. G, Vandenberghe. L. P, Thomaz-Soccol. V, Woiciechowski. A. L and Pandey, A. (2019). Chapter 14 - LignocellulosicBioethanol : CurrentStatus and Future Perspectives, in A. Pandey, C. Larroche, C.-G. Dussap, E. Gnansounou, S. K. Khanal and S. Ricke (eds), Biofuels : Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and GaseousBiofuels (Second Edition), AcademicPress, pp. 331–354.

[65] FAO ,2008 **:** rapport 1,Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, l'annéeinternationale de la pomme de terre, ,nutrition ,et diététique.

[66] Arvy Marie Pierre et Gallouin François**,** Légumes d'hier et d'aujourd'hui, Belin, Paris, 2007 (ISBN 978-27011-4205-0), p. 403 – 418

[67]Richonnet Céline,2004 « Les pommes de terre, quelle santé ! (http:/ / www. Cnipt. Com/ datas/files/ cnipt_lettre_n01. PDF) », Comité national interprofessionnel de la pomme de terre.

[68] Delaplace Pierre, 2007 **:** Caractérisation physiologique et biochimique du processus de vieillissement du tubercule de pomme de terre (Solanumtuberosum L).Université de GEBLOUX.

[69]Khelilcherfi .Z et Sadfi.N, 2021: Valorisation des sous produit polysaccharidiques pou la production de bioéthanol .Mémoire de master. Université de Dr Yahia Farés de Médéa.

[70] Cherif.N et Benaissa.F.Z, 2020: Valorisation des sous produit polysaccharidiques pou la production de bioéthanol .Mémoire de master. Université de Dr Yahia Farés de Médéa.

[71] AbdesselamImen , Bennai Nesrine, 2016: Valorisation des sous produit polysaccharidiques pou la production de bioéthanol .Mémoire de master. Université de Dr Yahia Farés de Médéa.

[72]Boumenir .S et Azzouzi .F, 2019: Valorisation des sous produit polysaccharidiques pou la production de bioéthanol .Mémoire de master. Université de Dr Yahia Farés de Médéa.

[73] Bekele, A. Fite, A. Alemu, S. Sezhunegn, T. Sewhunegn,TBogele,E. Simachew, M. Debele,T .(2015)."production of bioethanolfromwastepotatopeelcollectedfromuniversity of Gondar ,Student's cafeteria .Global journal of biochemistry and Biotechnology .3(3): p 132-140.

[74]Sunao. Y, Noriyuki .S,Kiyoshi .O,Mitsuo. S et Yuji. O, (2009). "EnzymaticHydrolysis and Ethanol Fermentation of By-ProductsfromPotatoProcessing Plants". Food Sci. Technol. Res., 15 (6): P 653 – 658

[75]Memon. A .A, Shah. F. A, Kumar. N, (2017). "Bioethanol Production fromWastePotatoes as a SustainableWaste-to-energy Resource via EnzymaticHydrolysis". I O P Conf. Series: Earth and Environmental Science. 73: P1-5.

[76] NWAGA. D, OMOLOKO.C , KOUAM. E. et WU.J, (2008). "Optimisation de la production d'éthanol par les techniques d'hydrolyse de l'amidon de manioc et la fermentation de la levure de bière (Saccharomyces cerevisiae)". JOURNAL OF THE CAMEROON ACADEMY OF SCIENCES. 8 (1): P 3-10.

[77]Arapoglou. D, Varzakas. Th, Vlyssides.A,Israilides. C,(2010). "Ethanol production frompotatopeelwaste (PPW)". Waste Management. 30: P 1898–1902.

[78]Mongraphs.(USP),(2003).Alcohol .pharmacopeial forum .vol.29 (5)

ANNEXES

Annexe01

Préparation des solutions

A) Solution d'amidon

Pour avoir une solution d'amidon d'une concentration donné, il faut suivre les étapes suivantes :

- peser la masse d'amidon sec (poudre) versé dans 10ml d'eau distillée, bouillir en mélangeant.
- Jeter ensuite ce mélange chaud dans 80 ml d'eau froid en remuant vivement.
- Remettez dans une fiole et ajuster le volume à 100 ml.

B) La solution d'HCl (0.1N)

Pour préparer une solution de (0.1N) d'un volume Vf, réaliser une dilution à partir d'une Solution mère pure (12N) selon la loi de dilution NmVm=Nf Vf

C) La solution de stockage (0.1N) :

- Dissoudre 3.17g d'iodine (I2) et 10g da KI dans une fiole de 250ml.
- Ajouter un petit volume d'eau distillée et mélanger jusqu'à la dissolution totale.
- Ajuster le volume à 250ml par l'eau distillée.
- Conserver la solution préparée dans un flacon en verre fumé sombre bien fermé.

D) La solution de dosage (0.001N) :

-Diluer 1ml de solution de stockage à 100 ml avec l'eau distillée (Dilution 1/100).

- Conserver la solution de dosage dans un flacon en verre fumé sombre bien fermé.

E) La solution de tampon de (0.012N) pH (5.6-6) :

–Dissoudre 12.8g d'acétate desodiumanhydre $C_2H_3NaO_2$ avec 0.34ml d'Acide acérique $C_2H_4O_2$ dans une fiole de 1000 ml.

–Ajuster le volume à 1000ml par l'eau distillée.

F) solution d'iodine (0.05 N) :

-Diluer 1ml de solution de stockage à 2ml avec l'eau distillée (Dilution 1/2).

G) solution de NaOH (1N)

- Dissoudre 1g d'hydroxyde de sodium dans un fiole de 25ml.

- Ajuster le volume à 25ml par l'eau distillée.

H) solution de NaOH(0.01N) :

- Diluer 0.1ml de solution d'hydroxyde de sodium (1N) à10ml avec l'eau distillée (Dilution 0.1/10).

I) solution de phénolphtaléine :

- Dissoudre 0.1g de phénolphtaléine avec 80ml d'éthanol (96%) dans une fiole de 100ml.
- Ajuster le volume à 100 ml par l'eau distillée.

Annexe 02

Courbes d'étalonnages

A) Dosage d'amidon :

-Préparer une solution d'amidon mère de 10g /l.

-Faire une gamme de dilutions allant de 0.2 à2 g/l en utilisant du HCl (0.1N).

-Faire un Dosage de 1ml de mélange avec 2.4ml d'iodine (0.001N).

-Mesurer l'absorbance à 620nm après une incubation à l'abri de lumière pendant 15 min.

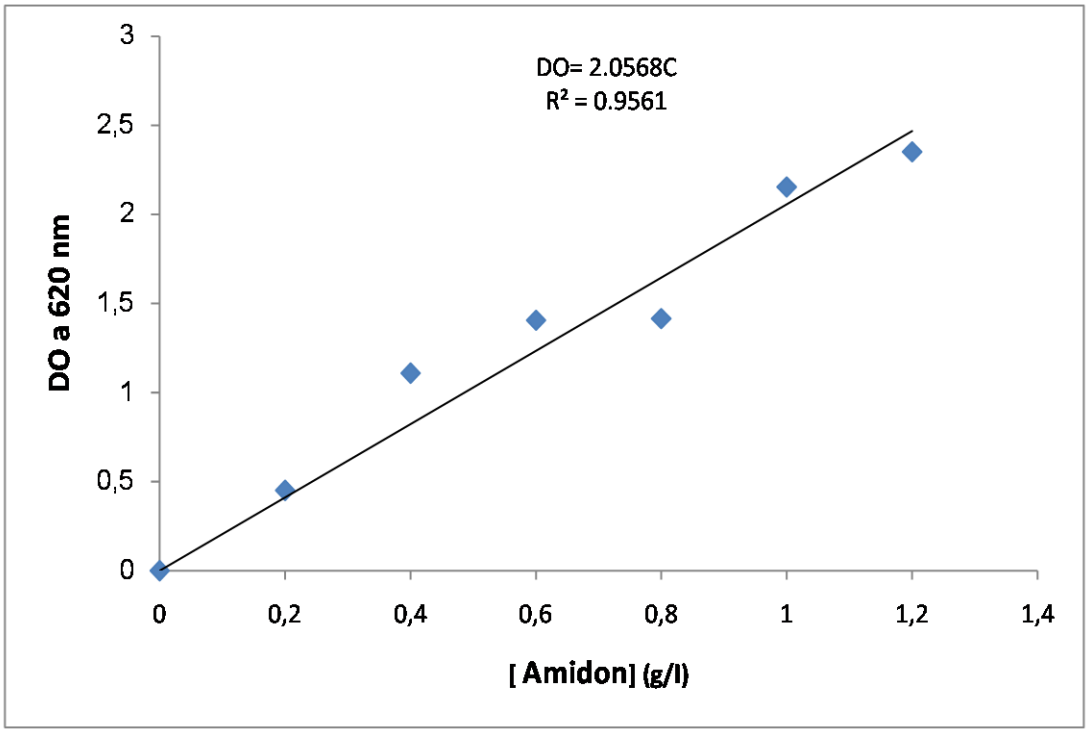


Figure II-20 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de l'amidon par spectrophotométrie.

B) Dosage de glucose :

- Préparer une solution mère de 10g/l de glucose.
- Faire une gamme des dilutions allant de 1 à 5g/l à partir de la solution mère.
- Faire un dosage de 1 ml de réactif « QCA » +10 µl de chaque dilution.
- Mesurer l'absorbance à 505nm après une incubation à l'abri de la lumière pendant 25min à température ambiante.

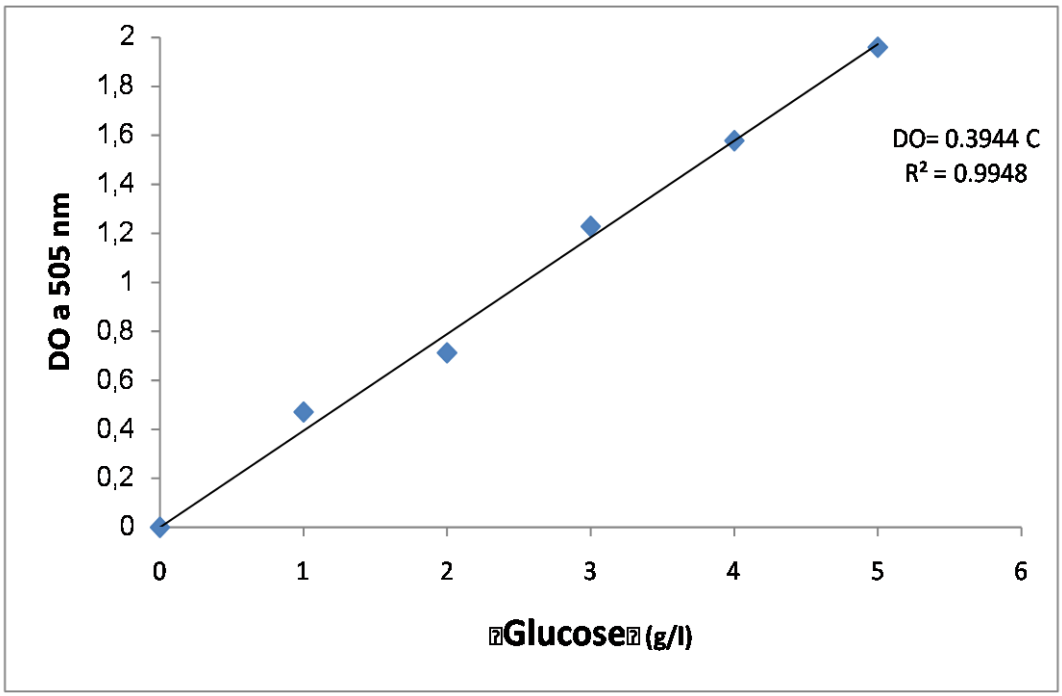


Figure II-21 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de glucose par spectrophotométrie.

C) Dosage de l'éthanol :

- A partir d'un éthanol pur, préparer des solutions d'éthanol de titres massiques allant de 10% à 70% (w/w)
- Mesurer l'indice de réfraction de chaque solution en utilisant un refractomètre.
-Tracez la courbe IR en fonction du titre massique.

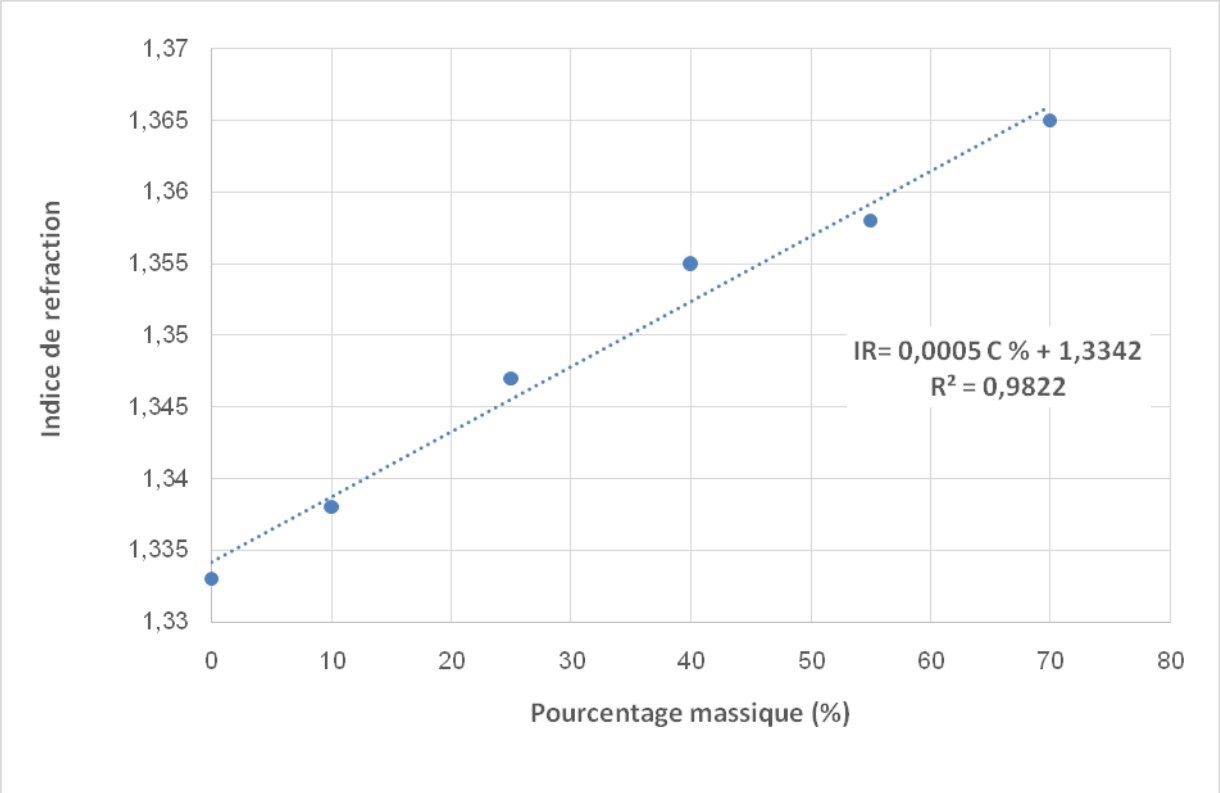


Figure II-22 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de l'éthanol par mesure de l'indice de réfraction