REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA



Faculté de Technologie

Mémoire de fin d'études de Master

Filière : Génie des procédés
Spécialité : Génie chimique

VALORISATION DE SOUS PRODUITS POLYSACCHARIDIQUES DANS LA PRODUCTION DE BIOETHANOL PAR FERMENTATION ALCOOLIQUE

Présenté par :

BOUMENIR SOUHILA

AZZOUZI FATIHA

Jury :

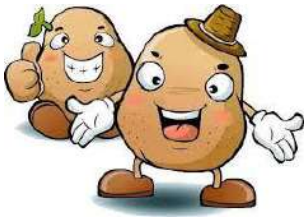
Pr. Abouseoud .M (Président)

Dr. Cherifi.H (Examinateur)

Dr. Tassist. A (Promoteur)

Promotion 2018-2019

Remerciements



Avant d'entamer l'étude systématique des différentes parties de ce mémoire, nous tenons de remercier Allah, le tout-puissant d'avoir éclairé notre chemin de la science.

Nous tenons à remercier Madame **TASSIST. A**, Docteur à université "Yahia Farés" d'accepter de nous encadrer, et de nous avoir consacré le temps nécessaire pour la réalisation de ce travail. Ainsi pour sa gentillesse, ses encouragements et ses précieux conseils.

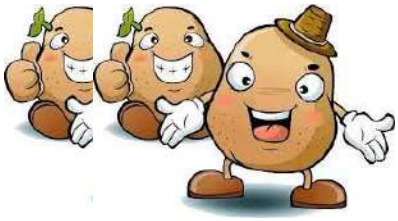
Nos remerciements s'adressent aussi à tous les membres du jury :

-Monsieur **ABOUSEOUD. M**, qui nous a fait le plaisir de présider ce jury, qu'il trouve ici notre profond respect.

-Madame **Chérif.H**, pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nous remercions tous **les ingénieures du Hall technologique** de mettre à notre disposition les moyens et les produits nécessaires pour accomplir ce travail.

Enfin, nous remercions **les enseignants du département « Génie de procédés** » ainsi que toute personne ayant participé à l'élaboration de ce modeste travail.



Dédicaces

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

Mes chers parents pour leur confiance, sacrifices et efforts.

Mes chères sœurs : Nassima, Lamia et Maroua ainsi que mes frères Lotfi et Khir El-Dine, pour leur compréhension et encouragement.

Ma cousine et amie d'enfance Rima.

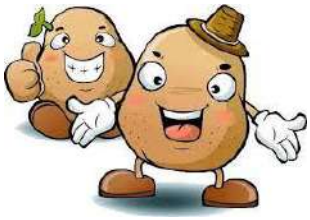
Les familles BOUMENIR et HADJERSSI.

Mes chères amies Imen, Hayet, Amel, Samia et Hanen ,Imen, Khadija ,manel, Anfel pour tous les moments que nous avons partagé durant les années d'étude et amitié .

Tous les étudiants de la spécialité Génie Chimique, Master2 « promotions 2018/2019 ».

Tous ceux qui connaissent Souhila de près ou de loin.

Souhila..



Dédicaces

Je m'incline devant mon seigneur le tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté, la foi et la patience pendant mes longues années d'études.

Je dédie ce modeste travail, à :

Ma chère et tendre mère, je reste figée et je ne peux pas trouver les mots pour exprimer ce qu'elle a fait pour mois durant toute ma vie …..Je t'aime maman.

Mon père, dont je n'oublierai le soutien et l'effort qu'il ma toujours apporté.

Mes frères: Taher, Kamel, Adel et mes sœurs: Hadjira, Bouchra.

Touts mes amies, plus particulièrement : Sichem, Fatiha, Imen, Djamila, Fatiha, Karima, soumia, Asma, Rania.

Toute la promotion du Génie chimique 2019.

Enfin, a tout ceux que j'aime, ceux qui m'aiment et me respect de prés ou de loin.

Fatiha..

الملخص :

الهدف من هذا العمل هو إنتاج الإيثانول من نشاء البطاطا الطازجة والجافة للحصول على طاقة متجددة تحل محل الوقود الأحفوري
يمر نشاء البطاطا بخمسة مراحل: يبدأ بمعالجة البطاطا , التمييع بواسطة إنزيم ألفا الأميليز متبوعًا بعملية التسكر باستعمال غلوكواميلاز و في الأخير تستعمل خميرة الخبز من اجل التخمرو ينتهي بالتقطير . في الشروط التالية:
-عملية التمييع :15غ/ل ,30 غ/ل و 60غ/ل من النشاء و الرقم الهيدروجيني (5.6- 6) عند د رجة الحرارة 55 سلزيوس , 250 وحدة/غ نشاء , 6000وحدة/غ نشاء ,3000وحدة /غ نشاء .
- عملية التسكر :4.6غ/ل,12.8 غ/ل غلوكواميلاس,الرقم الهيدروجيني= 4,درجة الحرارة 50سلزيوس .
يبلغ انتاج الايثانول في ظل هذه الظروف (12غ/ل ,المردود=0.58غ /غ)من البطاطا الطازجة في مدة 24 ساعة و من البطاطا الجافة في 36 ساعة (17 غ/ل,المردود=0.45- 0.48غ /غ).

كلمات البحث: الإيثانول الحيوي، البطاطا، التمييع، التخمر،خميرة الخبز.

Abstract:

The purpose of this work is to produce bioethanol from the starch of dry and fresh potatoes as a renewable energy replace fossil fuels . This production goes through five steps, starting by a pretreatement of the fresh potatoes by crushing. It followed by enzymatic liquefaction with alpha amylase, then saccharification with glucoamylase, a fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*, and a distillation. The conditions are: Liquefaction: Cstarch=(15, 30, 60)g/l; pH(5.5-6), T°=55°C, E/S= (250, 3000, 6000) CEIP/g starch. Saccharification :[Glucoamylase]=(6.4g/l et 12.8g/l) ; pH= 4, T=50°C. The bioethanol is produced from the fresh potato starch during 24 hours with a concentration of 12 g/l and R = 0.58 g/g; while the one obtained from the dry potato is produced after 36 hours with a concentration of 17g/l, and R=(0.45-0.48)g/g.

Keys words: Bioéthanol, potato, liquefaction, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae.*

Résumé :

Ce travail a pour objectif la production de bioéthanol à partir de l'amidon de pomme de terre fraiche et sèche (fécule) comme une énergie renouvelable remplaçant les énergies fossiles. Cette production passe par cinq étapes, à savoir : un prétraitement qui consiste à broyer la pomme de terre fraiche, suivi d'une liquéfaction enzymatique par l'alpha amylase, puis une saccharification par la glucoamylase et une fermentation à l'aide de *Saccharomyces cerevisiae.* Enfin, la production se termine par une distillation. Ce procédé a été réalisé dans les conditions suivantes : La liquéfaction : Camidon=(15, 30, 60) g/l; pH (5.5-6) ; T=55°C, E/S=(250, 3000, 6000) CEIP/g d'amidon. La Saccharification : [glucoamylase]=(6.4g/l et 12.8g/l), pH 4, T=50°C. Le bioéthanol est produit à partir de l'amidon de pomme de terre fraiche au bout de 24h avec un taux de 12g/l et un rendement de 0.58 g/g.Tandis que celui de la pomme de terre sèche (fécule) est obtenu au bout de 36h avec un taux de 17g/l et un rendement de R=0.45-0.48g/g.

Les mots clés : Bioéthanol, Pomme de terre, liquéfaction, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae.*

Sommaire

Remercîments

Dédicace

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des Figures

Introduction Générale..... 01

Partie Bibliographique

I. Les Énergie renouvelable en Algérie ……... 03

II. Production de bioéthanol de l'amidon de pomme de terre ……. 05

II.1Généralité sur la pomme de terre…… 05

II.1.1Description botanique et classification……..... 05

II.1.2 Description morphologique ……... 06

II.1.3Les caractéristique de tubercule…….. 06

II.2 La filière de pomme de terre en Algérie …….. 08

II.3L'amidon ……... 08

II.3.1 Structure physique et chimique ……. 08

II.3.2 Propriétés physiques et chimiques ……. 11

II.4 L'éthanol ……... 12

II.4.1 Définition …….. 12

II.4.2 Propriétés physiques et chimiques ……. 12

II.4.3 Usage ……. 13

II.5 Bioéthanol ……. 14

II.5.1 Origine ……... 14

II.5.2 Utilisation de bioéthanol …… 14

II.6 Saccharomyces cerevisiae ……..... 14

II.6.1 Morphologie et structure ……... 14

II.6.2 Les conditions de saccharomyce cerevisiae …….. 15

II.6.3 Caractéristique de *saccharomyce cerevisiae*…….. 17

II.6.4 Principales applications *saccharomyce cerevisiae* ……... 17

II.7 Procédés de production de bioéthanol …….. 18

II.7.1 Prétraitements …… 18
II.7.2 Extraction d'amidon …….. 19
II.7.3 L'hydrolyse …… 20
II.7.4 Fermentation par S.cerevisiae …… 21
II.7.5 Distillation ……. 21

Matériel et méthodes

I. Matériel …… 22
I.1Verreries …….. 22
I.2 Réactif, produit et solution…….. 23
I.3 Equipements ……... 23
I.4 Matériel biologique …… 23
II. Méthodes …… 24
II.1 Caractéristique de pomme de terre ……... 24
II.2 Test de l'activité alpha-amylase ……... 24
II.3 Liquéfaction de la pomme de terre ……. 25
II.3.1Teste préliminaire de l'attaque enzymatique de la pomme de terre fraiche ……... 25
II.3.2 Attaque enzymatique de l'amidon de pomme de terre traitée thermiquement …… 27
II.3.3Attaque enzymatique de l'amidon de pomme de terre traité thermiquement puis conservé par séchage (Fécule de pomme de terre)……... 29
II.4 Saccharification……. 31
II.5 Fermentation ……. 31
II.6 Distillation d'éthanol……. 32
II.7 Analyse d'éthanol récupère …….. 32

Partie pratique

I. Résultat et Discussion
I.1 Caractéristique de la pomme de terre …… 34
I.2 Test de l'activité alpha-amylase……. 34
I.3 Liquéfaction de la pomme de terre…… 38
I.3.1Teste préliminaire de l'attaque enzymatique de la pomme de terre fraiche…… 38
I.3.2 Attaque enzymatique de l'amidon de pomme de terre traitée thermiquement …….. 43
I.3.3Attaque enzymatique de l'amidon de pomme de terre traité thermiquement puis conservé par séchage (Fécule de pomme de terre)…… 50
I.4 Saccharification…… 54

I.5 Fermentation……... 56

I.6 Analyse d'éthanol récupéré……. 59

Conclusion générale……... 61

.

Liste des abréviations

α	Alpha
an	Année
N	azote
β	Beta
C	Carbone
CEIP	Centre d'Évaluation et d'information de la pharmacodépendance
ES	Complexe Enzyme –Substrat
C_0	Concentration Initiale
[ ]	Concentration
K_m	Constante de Michaelis
°C	Degré Celsius
Enr	Énergies Renouvelable
ETBE	l'éther éthyle tertio-butyle
FAO	Food and agriculture organisation
h	Heure
H	Hydrogène
IR	Indice de réfraction
Kg/an	Kilogramme par année
kpa	Kilo pascale
KW/h	Kilo watt heure
m	La masse
MS	Matière sèche
min	Minute
Mm^2	millimètre carré
µm	Micro-mètre
MW	Méga watt
M^2	Mètre Carré
M^3	Mètre cube
op	Optimale
O	Oxygène
pH	potentiel d'hydrogène
qx	Quintaux
R	Rendement
sc	*Saccharomyces cerevisiae*
S	Substrat
F	Suspension de pomme de terre filtrée
NF	Suspension de pomme de terre non filtrée
T	Température
TEP/an	Tonnes Équivalent Pétrole par année
TEPE	Tonnes Équivalent Pétrole
Vmax	Vitesse maximale
v	Volume
Wh	Watt heure

Liste des tableaux

Tableau 1 : Potentiel solaire en Algérie…… 03

Tableau2 : Caractéristique morphologique des granules d'amidon de différentes sources……... 09

Tableau 3 : caractéristique physique de l'éthanol…… 13

Tableau 4 : Éléments nutritifs nécessaire à *Saccharomyces cerevisiae*...…… 16

Tableau 5 : Principale application de S.cerevisiae…… 17

Tableau 6 : Prélèvement d'hydrolyse de suspension par couleur……..... 38

Liste des Figures

Figure 1 : Tracé des vitesses moyennes des vents à 10m du sol en Algérie…… 04
Figure2 : Objectifs du programme algérien des énergies renouvelables……...… 05
Figure3 : Les déférentes formes des tubercules de pomme de terre…… 07
Figure 4 : Composition chimique de 100g de pomme de terre cuite et épluchées……... 07
Figure 5 : Structure et ultrastructure d'un grain d'amidon……... 09
Figure 6 : Structure de l'amylose……. 10
Figure 7 : Structure de l'amylopectine……. 10
Figure 8 : Modèle moléculaire et formule semi développé de l'éthanol…….. 12
Figure 9 : Micrographie de S.cerevisiae……... 15
Figure 10 : Structure cellulaire de S.cerevisiae……. 15
Figure 11 : schéma explicatif de la production du bioéthanol à partir de plusieurs de sucre……... 19
Figure 12 : Digestion de l'amidon par l'amylase……. 20
Figure 13 : Montage de distillation…….. 32
Figure 14 : Composition de la pomme de terre (Pourcentages en eau, amidon et fibres)… 34
Figure 15 : Cinétique de dégradation de l'amidon par l'alpha-amylase à pH6, T°=55°C. 35
Figure 16 : Courbe de saturation de l'alpha-amylase : Evolution la vitesse initiale (Vi) en fonction de la Concentration initiale en amidon……..... 36
Figure 17 : Représentation graphique de la linéarisation de lineweaver-burk……. 36
Figure 18 : Photos correspondantes aux couleurs notées sur le tableau 6…… 39
Figure 19 : Le Rendement de liquéfaction des broyats de pomme de terre fraiche par l'alpha- amylase aux différentes concentrations. ……. 39
Figure 20: Liquéfaction de l'amidon de maïs (30g/l, E/S=3000CEIP/g d'amidon)…… 40
Figure 21: Liquéfaction de l'amidon de pomme de terre fraîche (15g/l, E/S=6000CEIP/g d'amidon)……. 40
Figure 22 : Liquéfaction de l'amidon de pomme de terre fraîche (15g/l, E/S=6000CEIP/g d'amidon). **A** : En présence de gomme arabique + alpha-amylase. **B** : Apres traitement à la cellulase puis liquéfaction par l'alpha-amylase. **C**: En présence de maxilase…….. 41
Figure 23 : Effet de la dispersion à 130°C sur la liquéfaction de l'amidon de pomme de terre par la BAN alpha-amylase et la maxilase……. 43

Figure24 : Effet de la concentration de l'enzyme sur la liquéfaction de broyats de pomme de terre dispersés à 130°C (optimisation du rapport E/S)…… 45

Figure 25 : Effet de concentration du substrat sur la liquéfaction de broyât de pomme de terre dispersés à 130°C avec un rapport E/S=250CEIP/g d'amidon=125CEIP/gMS (catalyse en milieu concentré)…….. 46

Figure 26 : Effet de température sur la liquéfaction à différentes charges : Dispersion à 100°C et 115°C. …… 48

Figure 27 : Effet de température sur la liquéfaction à 20g/100ml…… 49

Figure 28 : Effet de température sur la liquéfaction à 40g/100ml…….. 49

Figure 29 : Effet de température sur la liquéfaction à 80g/100ml…….. 50

Figure 30 : Liquéfaction de la fécule de pomme de terre sèche (3g/100ml, E/S=6000 CEIP/g d'amidon équivalent à 3000CEIP/g de MS) ……..... 51

Figure 31 : Effet de Concentration de l'enzyme sur la liquéfaction fécule sèche (optimisation du rapport E/S)…… 52

Figure 32 : Effet de concentration de substrat sur la liquéfaction de fécule sèche avec un rapport E/S=3000CEIP/g d'amidon= 1500CEIP/g MS (catalyse en milieu concentré)….. 52

Figure 33 : Effet de concentration de substrat sur la liquéfaction de fécule sèche avec un rapport E/S=6000CEIP/g d'amidon= 3000CEIP/g MS (catalyse en milieu concentré) ….. 53

Figure 34 : Saccharification de broyâts chargés (40g/100ml, 80g/100ml) dispersés aux différentes températures et liquéfiés avec un rapport E/S=250CEIP/g d'amidon (125 CEIP/g MS) : taux de glucose à T0, Tf=6h et rendement……. 54

Figure 35 : Saccharification de fécules sèches (6g/100ml, 12g/100ml) liquéfiées avec les rapports E/S=6000CEIP/g d'amidon (3000 CEIP/g MS) et E/S=3000CEIP/g d'amidon (1500 CEIP/g MS): taux de glucose à T0, Tf = 6h et rendement……. 55

Figure 36 : Résultats de la fermentation pour les broyâts dispersés, liquéfiés et saccharifiés…… 56

Figure37 : Résultats de la fermentation de milieux issus de la liquéfaction et la saccharification des fécules sèches…….. 58

Figure 38 : Résultat de la révélation d'un distillat au bichromate de potassium…….. 59

Figure 39 : Spectre infrarouge d'un distillat de Bioéthanol……. 60

Figure 40 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage d'amidon par spectrométrie **(Annexe 2).**

Figure 41 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de glucose par spectrométrie **(Annexe 2).**

Figure 42 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de l'éthanol par mesure de l'indice de réfraction en fonction de titre volumique **(Annexe 2)**.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Aujourd'hui, face à une pollution sans cesse croissante et des réserves en pétrole qui s'épuisent, une question se pose: comment limiter, voire remplacer le recours au pétrole tout en réduisant les émissions des polluants et de gaz à effet de serre ? Pour faire face à cette problématique mondiale, il s'agit d'anticiper la pénurie inéluctable du pétrole et de contribuer à un environnement durable.

Les biocarburants joueront un rôle majeur dans le bouquet énergétique de demain. Ils ont de multiples avantages: réduction de l'utilisation du pétrole brut et importations des combustibles, amélioration des performances des moteurs des véhicules, amélioration de la qualité de l'air en réduisant les émissions de gaz à effet de serre, utilisation des déchets, caractère renouvelable et durabilité **(Kechkar. M et Aziza. M, 2012)**

Le bioéthanol produit par fermentation alcoolique est largement utilisé comme biocarburant renouvelable. La canne à sucre et le maïs sont la principale matière première pour la production d'éthanol, tandis que de nombreuses autres matières premières agricoles riches en hydrates de carbone fermentescibles et disponibles localement sont utilisées dans le monde entier (**Whittington. T, 2003**).

Un problème majeur avec la production d'éthanol est la disponibilité et le prix des matières premières, car les coûts des matières premières représentent plus du tiers des coûts finaux (**Dien. B.S, Cotta. M.A, Jeffries. T.W, 2003)**.

Actuellement, la pomme de terre constitue une matière première alternative au maïs et betteraves pour la production d'éthanol **(Deshmuk.M, Deshpande.R.S , 2010)**. Elle 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 **(Bounoua. F, 2017)**.

Le présent travail se concentre sur la production de bioéthanol par fermentation alcoolique en utilisant ***Saccharomyces cerevisiae*** comme microorganisme producteur à partir de l'amidon de pomme de terre comme source de carbone et d'énergie. Nous décrivons les prétraitements de l'amidon de pomme de terre nécessaires à rendre les sucres complexes accessibles à l'hydrolyse enzymatique, ce qui permet d'obtenir un rendement maximale de bioéthanol. Cette étude comporte trois parties :

❖ Une partie bibliographique qui décrit l'état d'avancement des énergies renouvelables en Algérie, la description de la pomme de terre et de l'amidon de pomme de terre. Nous passons ensuite au procédé de production du bioéthanol en décrivant le microorganisme producteur ainsi que les étapes qui permettent de transformer l'amidon de pomme de terre en bioéthanol.

❖ Une partie expérimentale formée de deux chapitres :

- Matériels et méthodes qui présentent le matériel ainsi que les méthodes expérimentales et les techniques analytiques utilisées dans ce mémoire.
- Résultats et discussions qui illustre les résultats obtenus lors cette étude accompagnés de leurs interprétations et de discussions.

❖ Le manuscrit est achevé par une conclusion générale suivie de quelques perspectives pouvant être bénéfiques à un travail ultérieur.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les énergies renouvelables en Algérie :

L'algérie est un pays naturellement riche en sources d'énergie renouvelable. Nous pouvons citer parmi ces énergies :

❖ **L'Énergie solaire :**

De par sa situation géographique, l'Algérie dispose d'un des gisements solaires les plus importants du monde. La durée d'insolation sur la quasi-totalité du territoire national dépasse les 2000 heures annuellement et atteint les 3900 heures (hauts plateaux et Sahara). L'énergie reçue quotidiennement sur une surface horizontale de 1 m² est de l'ordre de 5 KWh sur la majeure partie du territoire national, soit prés de 1700 kWh/m²/an au nord et 2263 kWh/m²/an au sud du pays **(Ministère Algérien de l'Energie et des Mines, 2007)**. Le tableau dessous indique le taux d'ensoleillement pour chaque région de l'Algérie. Le volet de l'énergie solaire le plus utilisé dans notre pays est le solaire photovoltaïque mais les autres volets solaires thermiques et thermodynamiques restent toujours au stade d'expériences **(Bentouba. S, 2006).**

Tableau 1 : Potentiel Solaire en Algérie **(Ministère Algérien de l'Energie et des Mines, 2007)**.

Régions	Région coutière	Hauts Plateaux	Sahara
Surface (%)	4	10	86
Temps d'ensoleillement h/an)	2650	3000	3500
Energie reçue (KWh/m²/an)	1700	1900	2650

❖ **L'Energie hydraulique :**

Les quantités globales de pluit tombant sur le territoire algérien sont importantes et estimées à 65 milliards de m^3**,** mais finalement sans intérêt important à cause:

- ✓ du nombre réduit des jours de précipitation,
- ✓ de la Concentration de l'eau sur des espaces limités,
- ✓ de la forte évaporation,
- ✓ de l'évacuation rapide vers la mer.

Schématiquement, les ressources de surface décroissent du nord au sud. On évalue actuellement les ressources utiles et renouvelables de l'ordre de 25 milliards de m^3 dont environ 2/3 pour les ressources en surface **(Bounoua. F, 2017)**. 103 sites de barrages ont été recensés. Plus de 50 barrages sont actuellement en exploitation **(Berrached. L, 2011)**.

❖ **L'Energie géothermique :**

La compilation des données géologiques, géochimiques et géophysique a permis d'identifier plus de deux cent (200) sources chaudes qui ont été inventoriées dans la partie Nord du Pays. Un tiers environ (33%) d'entre elles ont des températures supérieures à 45°C. Il existe des sources à hautes températures pouvant atteindre 118°C à Biskra. Des études sur le gradient thermique ont permis d'identifier trois zones dont le gradient dépasse les 5°C/100 m **(Bounoua. F, 2017)**:

- ✓ Zone de Relizane et Mascara;
- ✓ Zone d'Aïne Boucif et Sidi Aïssa;
- ✓ Zone de Guelma et Djebel El Onk.

❖ **L'Energie éolienne :**

La quantité d'énergie produite par une éolienne dépend principalement de la vitesse du vent, de la surface balayée par les pales et de la densité de l'air. L'algérie a prévu dans un premier temps l'installation de la première ferme éolienne d'une puissance de 10 MW à Adrar sur la période 2011-2013, et de deux fermes éoliennes de 20 MW chacune entre 2014 et 2015 **(Figure 1)**. Des études seront menées pour détecter les emplacements favorables afin de réaliser d'autres projets sur la période 2016-2030 pour une puissance d'environ 1700 MW **(CDER, 2011)**.

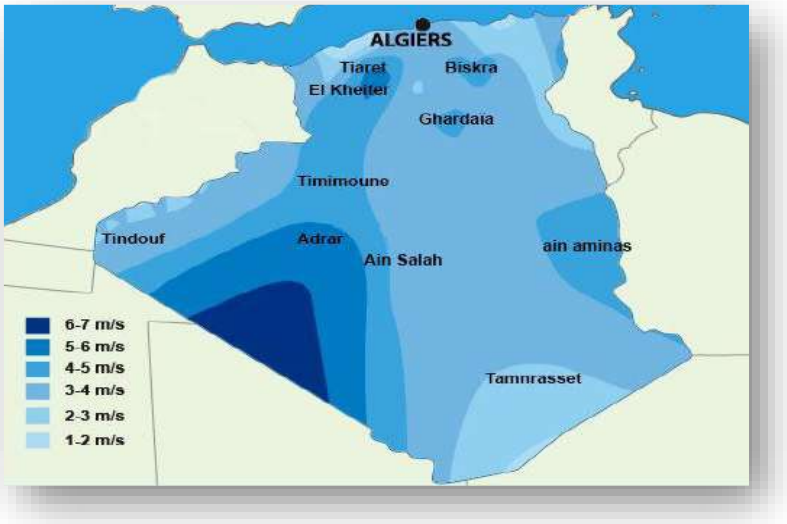


Figure 1 : Tracé des vitesses moyennes du vent à 10 m du sol en Algérie **(CDER, 2011)**.

❖ **L'Energie de biomasse :**

Dans le domaine de l'énergie, le terme de biomasse regroupe l'ensemble des matières organiques **(Sadi. M, 2014)**. Toutes les biomasses constituent un fort potentiel pour fabriquer l'éthanol, le biodiesel et les biogaz. On peut citer :

- ✓ *Le Potentiel des forets*: Le bois constitue une source d'énergie renouvelable et relativement propre. En Algérie, les zones forestières couvrent environ 250 millions d'hectares, sont moins de 10% de la surface total du pays. Ce potentiel est estimé à 37 Millions de TEP (Tonnes Équivalents Pétrole), dont environ 10% pourraient être récupérés **(Sadi. M, 2014)**.
- ✓ *Le Potentiel énergétique des déchets urbains et agricoles*: 05 millions de tonnes de déchets urbains et agricoles ne sont pas recyclés. Ce potentiel représente un gisement de l'ordre de 1.33 millions de TEP/an **(Agence Nationale des Déchet, 2014)**.

L'Algérie amorce une dynamique d'énergie verte en lançant un programme ambitieux de développement des énergies renouvelables et d'efficacité énergétique. Cette vision s'appuie sur une stratégie axée sur la mise en valeur des ressources inépuisables comme le solaire et leur utilisation pour diversifier les sources d'énergie et préparer l'Algérie de demain. D'ici 2030, environ 40% de la production d'électricité destinée à la consommation sera d'origine renouvelable : une puissance d'origine renouvelable de près de 22000 MW (entre 2011 et 2030) dont 12000 MW seront dédiés à couvrir la demande nationale en électricité et 10000 MW à l'exportation **(Figure 2) (CDER, 2011)**.

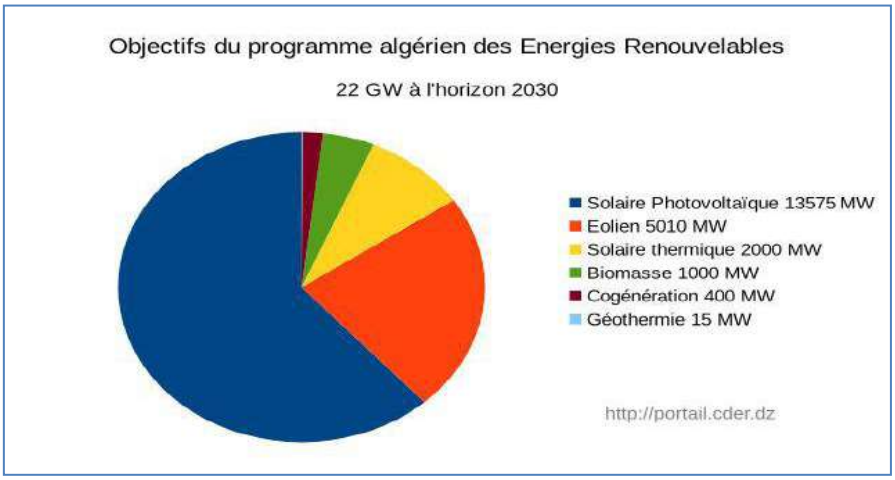


Figure 2: Objectifs du programme algérien des énergies renouvelables **(CDER, 2011).**

II. Production de bioéthanol issu de l'amidon de pomme de terre:

II.1 Généralité sur la pomme de terre:

II.1.1 Description botanique et classification:

La pomme de terre (***Solanum tuberosum L***), originaire d'Amérique du Sud, est une plante vivace dicotylédone tubéreuse, herbacée, cultivée pour ses tubercules riches en amidon, possédant

des qualités nutritives et font l'objet d'un commerce international important. Elle appartient à la famille des ***Solanacées***, qui sont des plantes à fleurs, et partage le genre ***Solanum*** avec au moins 2000 autres espèces (entre autres la tomate, l'aubergine, le tabac, le piment…) et dont plus de 200 sont tubéreuses. Sa classification dans le règne végétal est la suivante **(Rousselle. P et al., 1992) :**

Ordre	***Solanales***
Famille	***Solanaceae***
Genre	***Solanum***
Section	***Petota***
Série	***Tuberosa***
Espèce	***Solanum tuberosum L***

II.1.2 Description morphologique:

a) Partie aérienne : L'appareil aérien est constitué de plusieurs tiges principales souvent ailées, la plante adoptant avec l'âge un port plus ou moins étalé. Les feuilles sont alternes, composées, imparipennées et comportent de 7 à 15 grandes folioles latérales primaires flanquées de folioles secondaires, de folioles intercalaires et de folioles se distinguant par leur mode d'insertion sur le rachis. Les fleurs sont souvent stériles. La production de fruit (baie sphérique) est donc généralement rare **(Rousselle. P et al., 1996)**.

b) Partie souterraine : L'appareil souterrain comprend le tubercule mère desséché, les stolons (tiges souterraines Diagéotropes) portant éventuellement des tubercules fils dans leur région subapicale ainsi que des racines adventives. Il représente la partie la plus intéressante de la plante puisqu'on y trouve les tubercules qui confèrent à la pomme de terre sa valeur alimentaire. Cultivé pour la consommation, pour la transformation ou comme semence, le tubercule représente environ 75 à 85 % de la matière sèche totale de la plante **(Rousselle. P et al., 1996)**.

II.1.3 Les caractéristiques de la tubercule:

a) La forme : Les tubercules sont classés en trois types **(Figure 3) (Boufares. k, 2012)**:

- Les claviformes : qui sont plus ou moins en forme de rein (ou comme la Ratte),
- Les oblongs : de forme plus ou moins allongée (un peu comme un kiwi),
- Les arrondis : qui sont souvent bosselés; variétés surtout destinées à produire de la fécule.

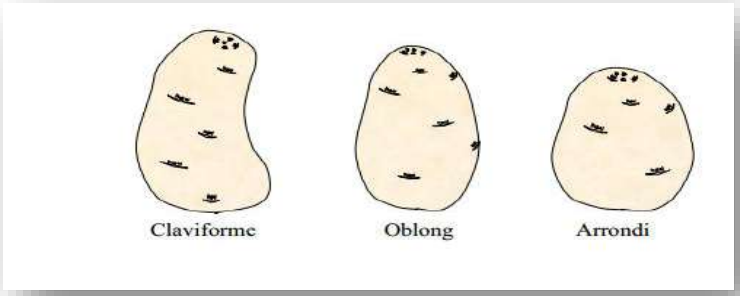


Figure 3 : Les différentes formes des tubercules de pomme de terre **(Boufares. k, 2012)**.

b) La couleur (Boufares. k, 2012):

- La couleur de la peau: est généralement jaune, mais peut être rouge, noire, brune ou rosée.
- La couleur de la chair: elle est blanche, jaune plus ou moins foncée, rose ou violette selon les variétés.

c) La composition chimique:

La figure 4 résume la composition chimique moyenne relative à 100 g de pommes de terre cuites avec leur peau et épluchées **(FAO, 2008)**.

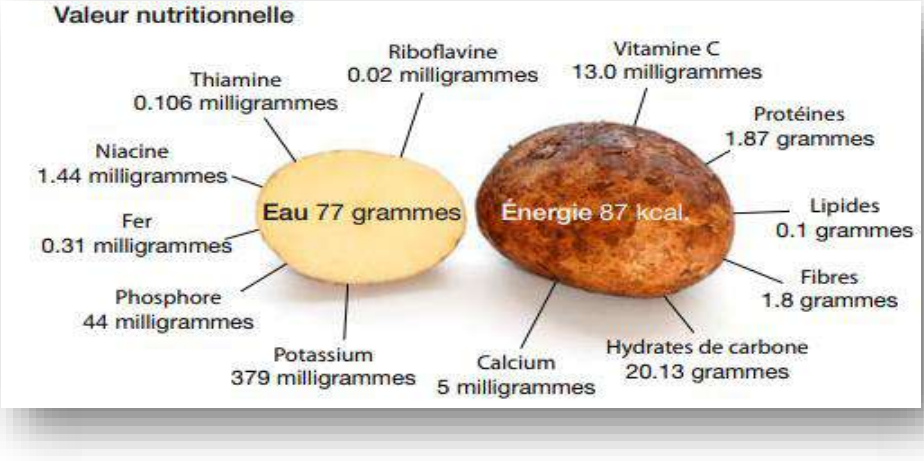


Figure 4 : Composition chimique de 100g de pommes de terre cuites et épluchées **(FAO, 2008)**.

II.2 La filière de pomme de terre en Algérie (MDAR, 2018):

L'Algérie occupe la deuxième place, après l'Égypte, dans la production de la pomme de terre en Afrique pour l'année 2010, selon un rapport de la FAO de 2011. Les chiffres présentés dans le rapport indiquent que la production nationale a dépassé le seuil de trois millions de tonnes durant l'année 2010. Elle est cultivée sur une superficie de 126 milles hectares à raison 26 tonnes produite en moyenne par hectare. L'Égypte quant à elle réserve une superficie de deux millions d'hectares pour cultiver ce légume. Sa production est estimée à 4 millions de tonnes pour la même année.

Un algérien consomme 111kg/an de pomme de terre, soit trois fois la moyenne mondiale, qui est de 31 kg : «Cette quantité place l'Algérie parmi les plus gros consommateurs de ce produit à l'échelle mondiale», a indiqué le ministre de l'Agriculture, du Développement rural et de la Pêche

Par ailleurs, le ministre a affirmé que la demande nationale en pomme de terre est assurée à 100% par la production nationale qui avait atteint 47 millions de quintaux (qx) en 2017, contre 26 millions qx en 2009, avec un rendement de près de 310 qx/hectare. La stabilité du marché en ce qui concerne ce légume a permis, selon lui, de rassurer les agriculteurs en les encourageant à élargir les superficies cultivées qui sont passées de 105.121 hectares en 2009 à 148.692 hectares en 2017. «La filière a connu, ces dernières années, une progression significative qui a permis non seulement de couvrir aisément les besoins nationaux mais également de dégager des excédents à exporter en facilitant, ainsi, une bonne régulation du marché. Evoquant les exportations de la pomme de terre réalisées durant les deux dernières années, le ministre de l'Agriculture a indiqué qu'elles s'étaient établies à 817 tonnes en 2017 dont 500 tonnes vers le Qatar et 249 tonnes vers l'Espagne.

II. 3 L'amidon :

L'amidon natif correspond au produit brut, extrait sans modification de la molécule. Il a des propriétés alimentaires et technologiques. L'amidon est toujours d'origine végétale. On le retrouve dans les graines (de céréales et de légumineuses) ainsi que dans les tubercules, les racines, les bulbes et les fruits (**Dupin. H et al., 1992)**.

II. 3.1 Structure physique et chimique :

Il se présente sous la forme de grains formés de zones concentriques alternativement claires et sombres, entourant un centre plus foncé appelé « hile ». La grosseur, la forme et la structure des ces grains sont variables avec la plante. Il n'existe donc pas un seul mais plusieurs amidons ayant des propriétés voisines, mais légèrement différentes selon leur origine **(Figure 5, Tableau 2)** (**Dupin. H et al., 1992)**.

.

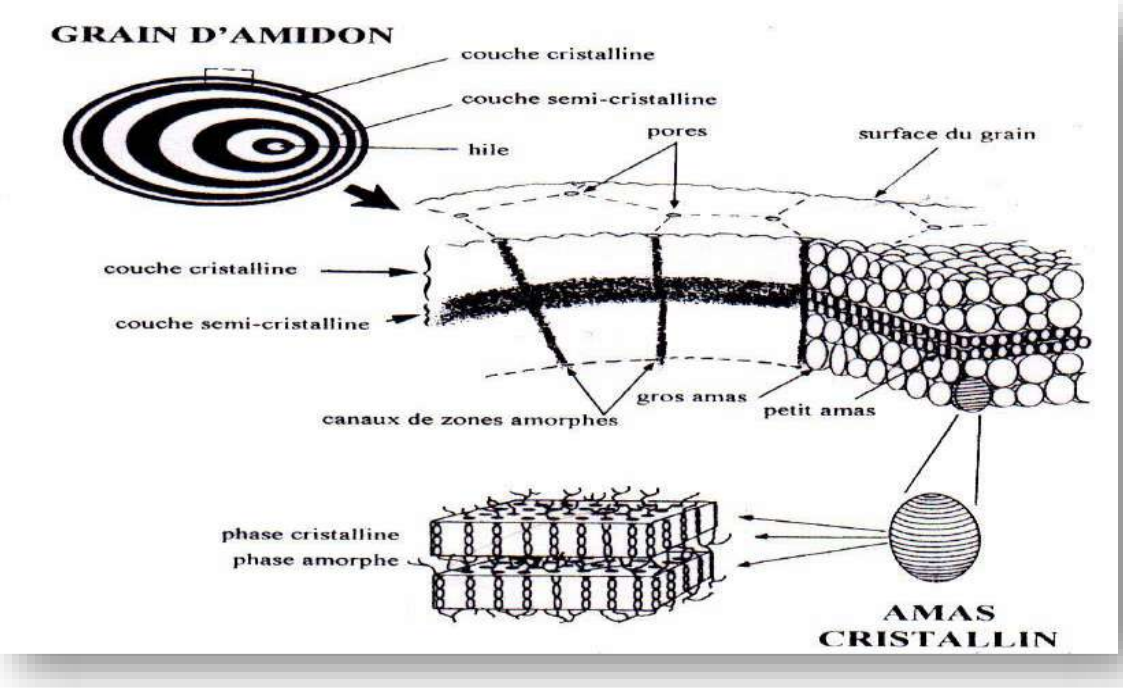


Figure 5 : Structure et ultrastructure d'un grain d'amidon **(Leveque. E et al., 2000).**

Tableau 2: Caractéristiques morphologiques des granules d'amidon de différentes sources **(Swinkles. J, 1985)**

Amidon	Type	Taille (µm)	Forme
Blé	Céréale	2 - 35	Rond, lenticulaire
Riz	Céréale	3 - 8	Polygonal, angulaire
Maïs	Céréale	2 - 30	Ronde, polygonale
Manioc	Racine	4 - 35	Ovale, tronqué
Canna	Racine	5 - 44	Ovale, polyédrique
Patate douce	Racine	5 - 25	Polygonale
Arrowroot	Racine	5 - 70	Irrégulière, polygonale

L'amidon est une molécule de poids moléculaire élevé. Son hydrolyse montre que celui ci est formé de molécules de glucose, liées entre elles par élimination de molécules d'eau. La formule brute est la suivante : $(C_6H_{10}O_5)$ n. La réaction d'hydrolyse peut alors se résumer par l'équation bilan suivante (**Dupin. H et al, 1992)**:

$$[(C_6H_{10}O_5)\ n + H_2O] + (n\text{-}1)\ H_2O \rightarrow n\ C_6H_{12}O_6$$

Les amidons sont des mélanges en proportions variables de deux types de constituants, l'amylose et l'amylopectine. L'amylose est un polymère linéaire de résidus de D-glucose attachés par des liaisons α (1-4). Sa masse moléculaire peut aller de 20000 (maïs) à 300000 (pomme de terre). Dans les granules d'amidon ce polymère est présent sous forme cristallisée, en raison particulièrement du grand nombre de liaisons hydrogènes existant entre les groupements hydroxyles. Les liaisons hydrogène de l'amylose sont responsables également de l'adsorption d'eau, ainsi que de la formation de gels (par création de réseaux tridimensionnels) au cours de la rétrogradation après gélatinisation. Du fait de sa nature cristalline, l'amylose ne gonfle qu'à une température élevée **(Buleon. A et al., 1998)**.

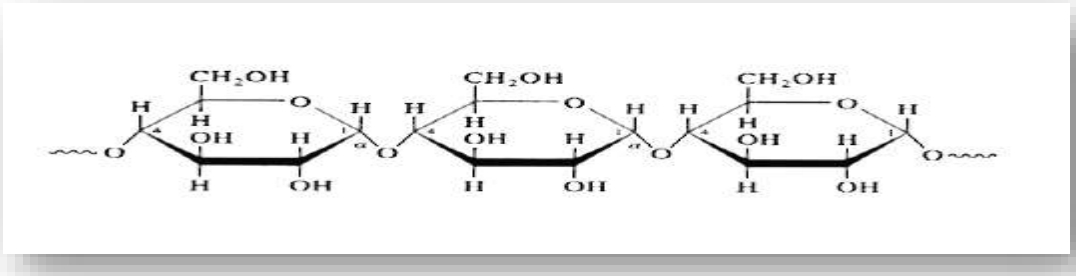


Figure 6 : Structure de l'amylose **(Horton. M et al., 1994)**

L'amylopectine est un polymère ramifié de D-glucose. Les liaisons sont du type α (1-4), sauf au niveau des branchements, où elles sont du type α (1-6). L'amylopectine présente un degré de cristallinité bien inférieur à celui de l'amylose. Sa masse moléculaire varie de 200000 à 1000 000 environ. Absorbe beaucoup d'eau à la cuisson, et est en grande partie responsable du gonflement des granules d'amidon. Les granules d'amidon riches en amylopectine sont plus faciles à dissoudre dans l'eau, à 95°C, que ceux qui contiennent beaucoup d'amylose.

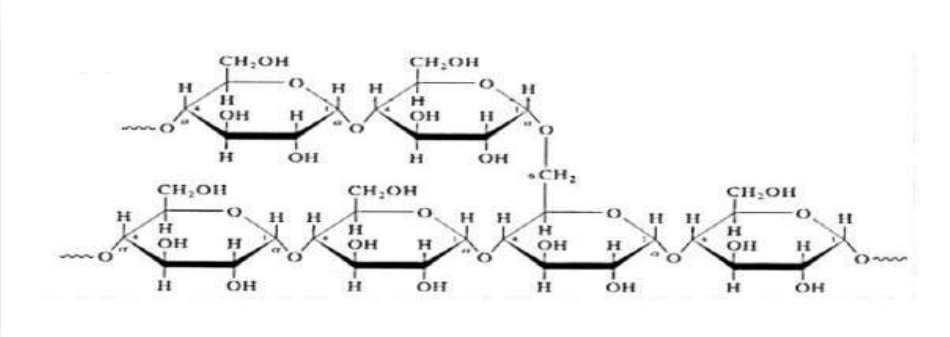


Figure 7: Structure de l'amylopectine **(Horton.M et al., 1994)**

II.3.2 Propriété physicochimique de l'amidon (Dupin. H et al., 1992):

Plusieurs facteurs sont mis en jeux dans ses propriétés physiques, la température est le facteur le plus important:

- ✓ Influence de la température: l'amidon est insoluble dans l'eau. Il forme, en revanche à chaud (70°C) une solution colloïdale qui épaissit en donnant un gel communément appelé empois.
- ✓ Température de gélification: la gélification commence graduellement à partir de 50°C mais est effective ensuite à une température dépendante de l'agitation moléculaire, de la grosseur des grains, de la nature de l'amidon, de l'eau employée et de la concentration en amidon.

Les amidons sont hydrolysables par trois types d'action : thermique, chimique, enzymatique :

- ✓ Action thermique : elle change la couleur et le goût de l'amidon par dextrinisation.
- ✓ Action chimique et enzymatique : les acides entraînent une hydrolyse partielle de l'amidon qui conduit à la formation de dextrines. Le gel formé dans ce cas est moins épais. Cette hydrolyse est accélérée par une augmentation de température. L'amidon peut subir aussi l'action d'enzymes comme des enzymes végétales, animales (amylase) ou microbiennes.

On constate que les amidons natifs ont beaucoup d'influence sur la texture cependant leur fragilité face à certains paramètres comme la température ont conduit à l'utilisation d'amidons modifiés. Les traitements précédemment décrits mènent à la formation de corps plus simples comme des dextrines (D-glucose) et des maltoses ce qui conduit à la formation d'amidons modifiés.

La solubilité de l'amidon est fonction du solvant utilisé :

- D'une façon générale, un polyholoside constitué de monomères identiques non substitués rattachés entre eux par des liaisons (1+4) est insoluble dans l'eau car les macromolécules, du fait de cette régularité structurale, peuvent facilement s'associer entre elles par de nombreuses liaisons hydrogène. L'amylopectine est soluble et conduit à des solutions stables dans l'eau. L'amylose, par contre, est insoluble dans l'eau à pH 7 et à température ordinaire **(Bottle. R.T et al., 1953 ; Machell. G et Riciurds. C.N, 1958)**.
- L'amylose et l'amylopectine sont toutes les deux solubles en milieu alcalin (On utilise généralement NaOH ou KOH 0.1 à 1N). Il faut néanmoins prendre garde au phénomène d'oxydation. La diminution lente et progressive de la viscosité intrinsèque de solutions alcalines d'amylose est la preuve d'une dépolymérisation **(Bottle. R.Tet al., 1953; Machell .G et Riciurds. C.N, 1958)**.

- De nombreux solvants organiques ont été utilisés pour étudier les propriétés physiques des constituants de l'amidon : le chloral et l'hydrazine hydratée et surtout l'éthylène-diamine et le formamide (**Whistler. R.L, 1965)** le solvant le plus récemment employé et le diméthylsulfoxyde. Il est très utilisé car il est relativement inerte, il dissout l'amylose et l'amylopectine en donnant les associations solvant-soluté par interaction hydrophobes et conduit à des solutions stable **(Foster. J.F, 1965)**.

II.4 L'éthanol :

II.4.1 Définition :

L'éthanol, l'alcool ou encore l'alcool éthylique sont toutes les trois des appellations qui désignent la même molécule qui est composée de deux atomes de carbone (C), six atomes d'hydrogène (H) et d'un atome d'oxygène (O). Les formules brutes et semi développées de la molécule d'éthanol sont respectivement le C_2H_6O, le C_2H_5OH et le CH_3-CH_2-OH **(Benabdallah. F et Bendaoud. M, 2016) (Figure 8)**.



Figure 8 : Modèle moléculaire et formule semi développée de l'éthanol **(Site 1)**.

II.4.2 Propriétés physiques et chimiques:

a) Propriétés physiques (INRS, 2007):

L'éthanol est un liquide mobile, incolore, volatile, d'odeur plutôt agréable, décelable dès 84 ppm. L'éthanol est miscible à l'eau, le mélange se faisant avec dégagement de la chaleur et contraction de liquide : un volume d'éthanol + un volume d'eau donnent 1,92 volume de mélange. Par contre il y a expansion de liquide lorsque l'éthanol est mélangé avec l'essence. L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels. C'est un bon solvant des graisses et il dissout de nombreuses matières plastiques. Les principales caractéristiques physiques de l'éthanol sont représentées sur le **tableau 1**.

Tableau 3 : Les caractéristiques physiques de l'éthanol (**INRS, 2007)**.

Caractères physiques	
Masse molaire	46 ,06
Point de fusion	-114°C
Point d'ébullition	78-78,5 °C
Densité à 20 °C	0,789
Tension de vapeur	5,9 KPa à 20°C / 10KPa à 30°C / 29,3 KPa à 50°C.
Température d'auto-inflammation	423 °C à 425 °C
Limites d'explosivité dans l'air (% en volume)	Inférieur 3,3 % Supérieur 19 %

L'éthanol est un liquide très inflammable : le point d'éclair en coupelle fermée = 13°C dont les vapeurs peuvent former des mélanges explosifs. Les solutions aqueuses d'éthanol sont également inflammables : le point d'éclair d'une solution à 70% est de 21°C, celui d'une solution à 10% est de 49°C.

b) Propriétés chimiques:

Dans les conditions normales l'éthanol est un produit stable. Il possède les propriétés générales des alcools primaires (réaction d'oxydation, déshydrogénation, déshydratation et estérification). Il peut réagir vivement avec les oxydants puissants (acide nitrique, acide perchlorique…) et d'une manière générales avec tous les composés chimiques ou minéraux riche en oxygène et instables. Une oxydation brutale (par exemple combustion) le transforme en dioxyde de carbone et en eau. L'oxydation ménagée conduit principalement à l'aldéhyde et l'acide acétique **(INRS, 2007)**.

II.4.3 Usage :

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 à brûler, est de l'éthanol dans lequel on a dissous divers produits pour le rendre impropre à la consommation **(INRS, 2007)**.

II.5 Le bioéthanol:

II.5.1 Origines (Sadi. M, 2012):

Le bioéthanol est l'éthanol élaboré à partir de la biomasse. Il est obtenu par la fermentation des sucres fermentescibles contenus dans la biomasse en présence d'une levure : S*accharomyces ceveresiae* qui est l'une des levures utilisées lors de la fermentation des sucres. Le bioéthanol peut être produit à partir :

- de substrats riches en sucrose (canne à sucre, betteraves sucrières, etc.),
- de substrats riches en amidon (maïs, orge, blé, pomme de terre, etc.),
- des substrats cellulosiques tels que les résidus agricoles (la paille ou les cannes de maïs), les résidus forestiers et les cultures énergétiques (le panic érigé ou des arbres à courte rotation).
- des microalgues.

II.5.2 Utilisation du bioéthanol :

Le bioéthanol peut être utilisé, sous certaines conditions, comme carburant dans les moteurs à essence, soit de 5 à 20% dans les moteurs à essence sans modification, de 85 à 100% dans des moteurs à essence spécifiquement adaptés. En outre, l'éthanol peut être converti en divers produits de base de l'industrie chimique, tels, l'éthylène et l'éther éthyle tertio-butyle (ETBE), conventionnellement, produits à partir du pétrole. Ce dernier est mélangé à raison de 15% à l'essence, ce qui permet d'augmenter l'indice d'octane du carburant. Contrairement à l'éthanol, il ne favorise pas l'évaporation des carburants et n'absorbe pas l'humidité de l'air **(Kara Ali. M, 2014)**.

II.6. *Saccharomyce cerevisiae* :

Saccharomyces cerevisiae vient du mot saccharose qui signifie «sucre», myes « champignon », tandis que *cerevisiae* fait référence à «cervoise», c'est un terme scientifique, nom qu'on donnait autrefois à la bière, c'est un terme utilisé pour désigner le petit champignon microscopique qui compose les différentes sortes de levures qu'on utilise pour la fermentation. Elle est littéralement connue comme levure du sucre **(Larpent. J et Gourgoud. M, 1985)**.

II.6.1 Morphologie et Structure (Figure 9 et 10):

Les levures sont des eucaryotes unicellulaires, ayant une forme sphérique ou ovale, d'une taille qui peut varier entre 1 et 9µm en longueur et de 1 à 5µm en largeur. Leur état physiologique et leur morphologie peuvent varier selon les conditions de l'environnement **(Benouida. K, 2008).**

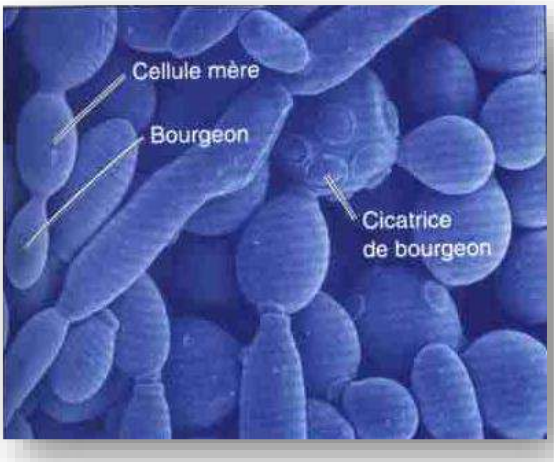


Figure 9 : Micrographie de *S. cerevisiae* **(Tortora. G et Anagnostakos. N, 1987)**.

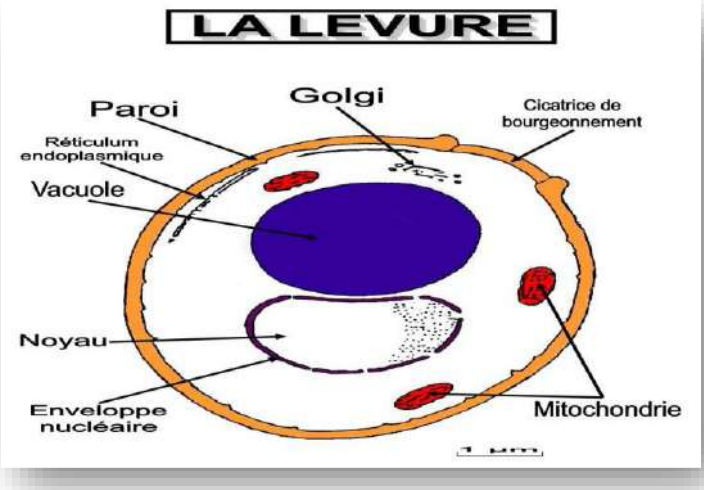


Figure10 : Structure cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* **(Fenouchi. I, 2017)**.

II.6.2 Les Conditions de culture de *Saccharomyces cerevisiae* (Fenouchi. I, 2017) :

La croissance d'un micro-organisme peut être considérée comme une série d'interaction entre les cellules et l'environnement pour cela le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires aux systèmes cellulaires et aux besoins énergétiques de la levure.

✓ **Les besoins nutritionnelles :** Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires à la croissance de la levure. La biomasse est composée principalement d'eau et des éléments CHON (carbone, hydrogène, oxygène, azote) ; le milieu doit donc fournir ces éléments pour permettre la croissance. Le milieu doit aussi apporter une source nutritive qui fournie l'énergie nécessaire à la cellule, à sa division et donc à la synthèse de nouvelles cellules **(Tableau 4)**.

Tableau 4 : Eléments nutritifs nécessaire à *Saccharomyce cerevisiae* lors de la fermentation.

(Amillastre. E, 2012)

Les éléments nutritifs	Exemple
L'eau	Les levures sont constituées de 75% d'eau et 25% de matière sèche.
Une source de carbone	Représente environ 50% du poids sec de la levure.
Une source d'azote	Les levures contiennent 10% environ d'azote, entrant dans la composition des acides aminés, des acides nucléiques et de certaines vitamines. Il est apporté par le milieu de culture sous la forme de sels d'ammonium (phosphate, sulfate, chlorure et nitrate).
Une source de vitamine	Régulateurs et Cofacteurs importants des voies métaboliques. Elles agissent généralement comme coenzymes ou précurseurs d'enzymes. *Saccharomyces cerevisiae* est auxotrophe pour les vitamines suivantes qui seront ajoutées au milieu de culture : A, B1, B2 ,B_5,B_6,PPetC.
Des oligo-éléments (ions inorganiques)	Les macroéléments : K^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Cl^- dont la concentration nécessaire varie entre 0,1 et 1 mm.
	Les micro-éléments : $Co^{2+,}$ B^{2+} Cd^{2+} , Cr^{2+} $Cu^{2+,}$ Ni $^{+2,}$, I^- , Mo+, pour lesquels une concentration de 0,1 à 100 µM est suffisante.

✓ **Besoins physico-chimiques :**

Température: En général, la température de croissance optimale des levures est comprise entre 25-35 °C **(Larpent . J.P, 1990)**.

pH : Un facteur très important pour la croissance de la levure (*Saccharomyces cerevisiae*) qui détermine l'activité métabolique de la cellule. *Saccharomyces cerevisiae* présente l'avantage de croître sur milieux acides pour lesquels la plus part des bactéries ne se développent pas. La fermentation alcoolique se déroule à un pH acide (pH 4,5 à 5) **(Benaouida. K, 2008)**.

Aération : Elle a pour but d'une part d'apporter l'oxygène nécessaire à la croissance des levures et d'autre part d'homogénéiser et d'assurer la circulation du moût dans le fermenteur. Cependant, il est intéressant de rappeler que la levure boulangère s'adapte à deux modes de vie, en présence ou en absence d'oxygène (cas de la fermentation) **(Noui. Y, 2001)**.

Pression osmotique : Elle intervient également sur le développement des levures, la levure "***Saccharomyces cerevisiae***" est une espèce osmophile qui peut se développer sur des milieux à forte concentration en sucre ou en sel **(Bouras. H et al, 2005).**

II.6.3 Caractéristiques de *Saccharomyces cerevisiae* (Staron.T, 1977) :

A part les caractéristiques culturaux déjà cités (Température de croissance optimale : 30°C, pH de croissance optimal : 4,5), *Saccharomyces cerevisiae* adopte un mode de reproduction sexué et asexué et un mode respiratoire aéro-anaérobie facultatif. Elle se distingue aussi par des caractéristiques biochimiques particulières (utilisation des sucres) :

- ✓ Elle assimile et fermente le glucose, galactose, maltose, saccharose.
- ✓ Elle a une assimilation variable pour le tréhalose et assimile le raffinose
- ✓ Elle à une fermentation variable pour le tréhalose et le raffinose.
- ✓ Elle n'assimile pas et ne fermente pas le lactose.

II.6.4 Principales applications de *Saccharomyces cerevisiae*:

Les levures représentent certainement le groupe le plus important de micro-organismes exploités par l'homme. Depuis la plus haute antiquité, elles ont joué un rôle de premier ordre dans l'alimentation humaine : vinification, panification, brasserie, fromagerie. Elles sont aussi utilisées à l'état mort en tant qu'aliment comme source de protéines et de vitamines **(Staron.T, 1977) (Tableau 5)**.

Tableau 5 : Les principales applications de *S. cerevisiae* (**Camoni. H , 1990)**.

Produits de *S. cerevisiae*	**Application**
Alcool (Ethanol) et CO2	Fabrication du pain, du vin, de la bière. Ethanol utilisé comme solvant et antiseptique.
Glycérol	Chimie des matières plastiques industrie pharmaceutique
Protéines alimentaires (à partir des mélasses et divers déchets alimentaires).	Alimentation de l'homme ou du bétail.
Invertase	Confisserie.

II.7 Procèdes de Production du bioéthanol

Actuellement, il y a une légère prédominance de la production de bioéthanol, à base de matériaux amylacés (53% du total), comme le maïs, le blé et d´autres céréales et grains. Néanmoins d'autres plantes sont utilisables comme la pomme de terre ou encore le manioc. Les réserves d'amidon dans les céréales s'effectuent dans leurs graines. Celles-ci étant pauvres en eau, elles peuvent être stockées et utilisées ultérieurement. Ce n'est pas le cas pour la pomme de terre ou le manioc qui sont riches en eau et doivent donc être transformés après récolte **(Ohta. K et al., 1993)**.

La technologie de conversion dans le cas des plantes amylacées commence généralement par la séparation, le nettoyage et la mouture du grain. L'amidon contenu dans les plantes n'est ni fermentescible ni accessible directement, il doit donc être hydrolysé en glucose par voie enzymatique en deux étapes successives : liquéfaction à 100-105 °C avec des α-amylases, suivie de la saccharification à 50-55 °C avec l'amyloglucosidase libérant le glucose. La composition des jus sucrés à partir d'amidon peut varier selon les procédés utilisés et selon les variétés de plantes utilisées. Les sucres libérés seront alors, fermentés par des levures et le liquide résultant sera distillé pour la séparation du bioéthanol **(Ohta. k et al., 1998) (Figure 11)**.

La canne et la betterave, sont aussi des végétaux qui englobent énormément de sucres simples. Ils sont obtenus par un processus se basant sur l´extraction au moyen de la mouture ou de la diffusion, et qui pourront être soumis directement à une fermentation. Après la fermentation, le liquide est distillé **(Figure 11)**.

Il est à noter que le bioéthanol dit ≪ de première génération ≫ lorsqu'il est issu de la fermentation des matières premières qui peuvent être utilisées dans une chaîne alimentaire animale ou humaine. En revanche, l'éthanol issu de la fermentation des matières cellulosiques telles que le bois, les feuilles et les tiges des plantes ou celles issues de déchets est qualifié de « la deuxième génération » **(Fujita et al, 2003)**.

II.7.1 Prétraitement (Site 2):

a) Lavage, épierrage : La fécule ayant une densité presque identique à celle de la terre, il est impossible de l'éliminer après broyage. Le lavage est réalise au début dans des tambours perfores. Cette étape permet aussi l'élimination du sable et des pierres qui incrustent dans les tubercules.

b) Épluchage, râpage : Les différentes peaux de la pomme de terre emprisonnent la fécule. Pour l'extraire, il faut donc briser ces parois cellulosiques. Les tubercules sont donc épluchés puis râpés mécaniquement par abrasion. Cette étape est réalisée grâce à des tambours en acier munis de fines lames de scie, tournant à grande vitesse.

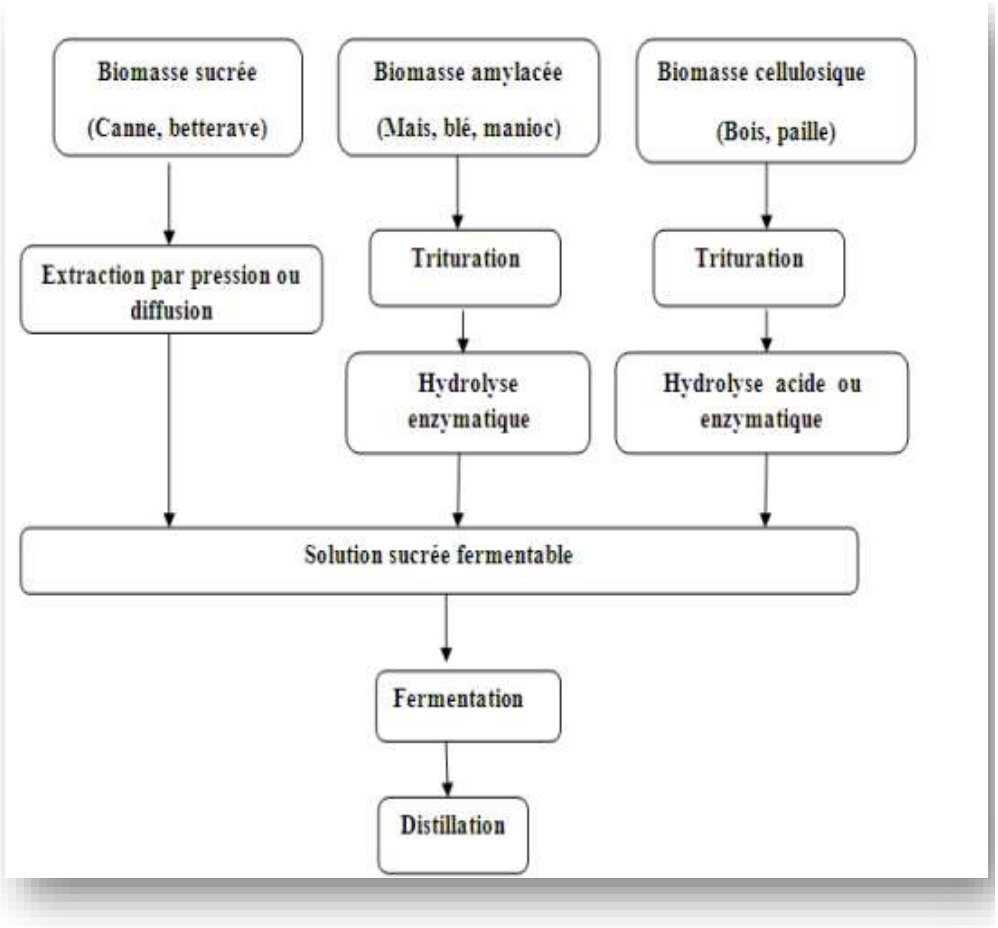


Figure 11 : Schéma explicatif de la production du bioéthanol à partir de plusieurs sources de sucres. **(Kara ali .M, 2014)**

II.7.2 Extraction de l'amidon :

Les tubercules contiennent plus d'amidon, en poids sec, que presque toutes les autres cultures vivrières, et sont, par ailleurs, faciles à extraire à l'aide de technologies simples. Pour obtenir de l'amidon, on râpe les racines, on mélange la pulpe avec de l'eau et on extrait l'amidon par filtration, décantation ou, en cas de transformation semi-industrielle ou industrielle, par centrifugation. La productivité des procédés traditionnels est faible et la qualité du produit varie beaucoup en fonction des conditions de séchage et de la qualité de l'eau utilisée au cours de l'opération. En dehors du Nigeria et de l'Afrique du Sud, l'industrie d'extraction de l'amidon est quasiment inexistante en Afrique. Dans la majorité des pays d'Afrique tropicale, les tubercules sont une denrée de base et constituent une réserve importante en cas de perte d'autres cultures vivrières, et de plus en plus une culture de rente pour le marché urbain. Les politiques gouvernementales ne tendent guère à promouvoir la production d'amidon à partir de tubercules, même si plusieurs pays importent des

amidons qui pourraient être produits localement à partir de ces tubercules **(FAO, 2006).** A ce titre, le taro variété Sosso constitue une source par excellence pour l'extraction de l'amidon et pour une éventuelle utilisation industrielle.

II.7.3 L'hydrolyse :

a) Action de la chaleur et traitement acide : L'action conjuguée de l'acidité et de la température (>100°C) permet une hydrolyse efficace. Les coupures des chaînes d'amidon se font au hasard, d'où une action liquéfiante entraînant une diminution brutale de la viscosité. Ces deux technologies permettent aux amidons d'être solubles dans l'eau froide **(Multon. J.L, 1992)**.

b) Traitement enzymatique : Il permet une plus large diversité dans la composition glucidique. L'amidon est hydrolysé par différentes espèces d'amylase **(Figure 12) (Multon. J.L, 1992) :**

- ✓ L'alpha amylase : elle coupe les liaisons (1-4) des amyloses, au hasard, c'est une enzyme liquéfiante.
- ✓ La béta amylase : elle libère surtout du maltose par rupture des liaisons (1-4) : Hydrolyse saccharifiant, son action est stoppée au niveau des ramifications (1-6) de l'amylopectine.
- ✓ L'amylo glucosidase : elle libère du glucose (dextrose) par rupture des liaisons (1-4) et (1-6).

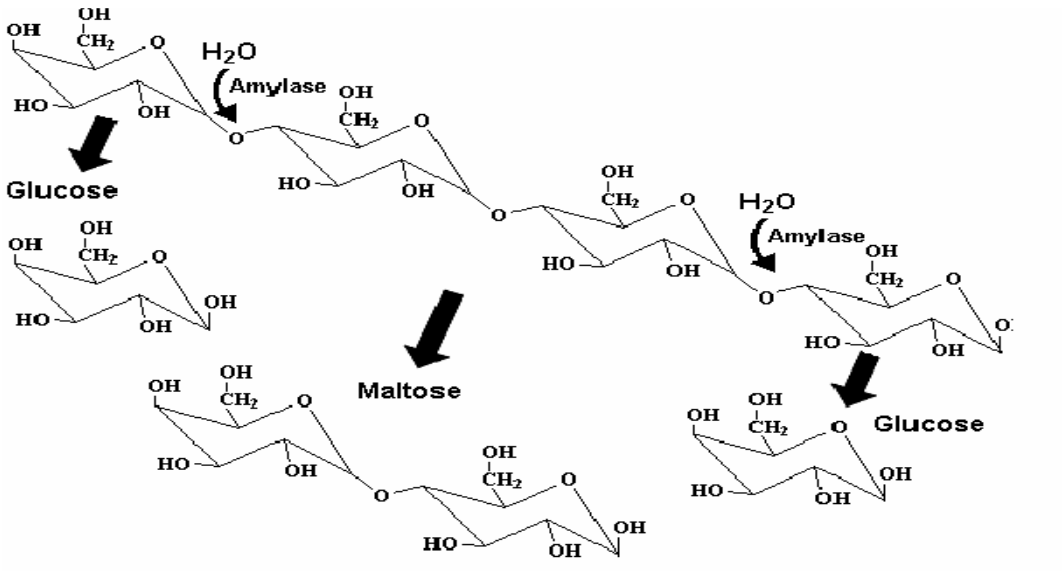


Figure 12: Digestion de l'amidon par l'amylase **(Site 3)**.

Nous pouvons classer les grains d'amidon en trois classes selon leur sensibilité aux attaques enzymatiques :

-ceux qui sont facilement attaqués (manioc),

-ceux qui résistent (maïs riche en amylose, pomme de terre)

-ceux dont la sensibilité est intermédiaire (maïs, orge et tapioca).

Les différences sont dues à la plus ou moins grande compaction des chaînes de l'amidon, qui détermine la capacité de diffusion des enzymes à l'intérieur du grain d'amidon. Cela est en accord avec le fait que l'amidon solubilisé est toujours plus sensible aux enzymes que l'amidon natif. En effet, lorsque l'amidon est solubilisé, les molécules d'amylose et l'amylopectine sont dispersées dans le solvant et donc accessibles aux enzymes. En revanche, dans l'amidon natif, ces molécules sont "organisées", compactes et donc difficilement accessibles aux enzymes (**Levesque. E et al, 2000)**.

II.7.4 La fermentation alcoolique par *S. cerevisiae* :

Ce procédé transforme des sucres fermentescibles par des levures en alcool et gaz carbonique avec dégagement de chaleur :

$$\text{Sucres + Levures} \Longrightarrow \text{Ethanol + } CO_2 \text{ + Energie}$$

Il existe un grand nombre de microorganismes utilisés pour la fermentation. Cependant peu sont réellement compétitifs en termes de rendement en éthanol par rapport au substrat consommé, de capacité fermentaire, de tolérance élevée à l'éthanol et d'adaptation aux conditions de fermentation. L'espèce la plus utilisé au niveau industriel est *S. cerevisiae*. Elle transforme le glucose en éthanol. Actuellement, aucun autre micro-organisme n'atteint ses performances sur glucose en conditions non stériles, à savoir un rendement de l'ordre de 0,47 g d'éthanol par g de glucose, une productivité supérieure ou égale à 5 g/l.h, et des concentrations finales en éthanol voisines de 10% en volume. *S. cerevisiae* présente de nombreux atouts supplémentaires résultant de nombreuses années de sélection : résistance à l'éthanol, mise en oeuvre industrielle aisée, etc. **(Ogier. J.C, 1999)**.

II.7.5 La distillation

Le milieu de fermentation porté à ébullition est introduit dans la colonne, tandis qu'on apporte, à la base, de la vapeur d'eau. Après condensation, l'alcool brut est recueilli sous forme de liquide. Une étape de purification est nécessaire pour se débarrasser des composés volatils. Le bioéthanol destiné aux carburants automobiles doit être déshydraté, car l'eau contenue dans l'alcool n'est pas miscible avec l'essence **(M. Kechkar et al, 2012)**.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Ce travail a été réalisé au niveau du hall technologique de l'université Yahia Farés de Médéa. L'objectif de ce procédé est d'hydrolyser enzymatiquement l'amidon de pomme de terre afin de le transformer en sucres assimilables et fermentescibles. Ces derniers sont transformés par la suite en éthanol par fermentation alcoolique réalisée par *Saccharomyces cervisiae.* 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.

I. Matériel :

I.1 Verreries :

- ✓ Spatules.
- ✓ Pipettes+poire.
- ✓ Fiole jaugées.
- ✓ Béchers.
- ✓ Micropipettes.
- ✓ Tube à essaies.
- ✓ Cristallisoirs.
- ✓ Eprouvettes.
- ✓ Capsules, Verre de montre.



I.2 Réactif, produit et solution :

- ✓ Solutions d'amidon de concentrations différentes.
- ✓ Acide chlorhydrique HCl pur (12N) et solution d'HCl (0.1N).
- ✓ Iode(I_2).
- ✓ Iodure de potassium (KI).
- ✓ Solution d'iodine mère (de stockage) (0.1N).
- ✓ Solution d'iodine (0.001N).
- ✓ Solution tampon acide acétique/acétate de sodium pH 5,8.
- ✓ Gomme arabique.
- ✓ Kit de Réactifs enzymatiques de pour le dosage de glucose, type « QCA ».
- ✓ Solutions d'éthanol de concentrations différentes.
- ✓ Acide sulfurique 25%.
- ✓ Solution de bichromate de potassium 0,1M.

La préparation de ces solutions est indiquée dans **l'annexe 01.**

I.3 Equipements :

- Agitateur magnétique « Heidolph MR Hei-standard ».
- Balance « Sartorius »
- Bec bunsen.
- pH mètre « Hanna ».
- Bain-marie « Memmert ».
- Autoclave « Memmert ».
- Capteur Ethanol «Jeulin».
- Centrifugeuse « EBA 20 ».
- Montage de distillation « Jeulin ».
- Chauffe ballon «Wisd thermo».
- Thermomètre
- Homogénéiseur.
- Agitateur secoueur « Memmert ».
- Spectrophotomètre IR «Ftir-8400-SHIMADZU»



- Spectrophotomètre (UV-Visible) « UV mini 1240-SHIMADZU».
- Bras Mixeur.

I.4 Matériel biologique :

- Biocatalyseurs (Enzymes) :

-α amylase BAN 480L en solution, aimablement fournie par le complexe SAIDAL de Médéa : Code 09330028 L, Titre : 3.7 à 4.1 *106 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.

-Cellulase «(EC.3.2.1.4) à partir de *Trichoderma reesei* (ATCC 26921) « SIGMA » : Température optimale 37°C, pH optimum 5.

-Maxilase en comprimés 3000 CEIP.

- Micro-organisme : la levure boulangère commercialisée : *Saccharomyces cerevisiae* « S.I.Lesaffre Marq-France ».
- Pomme de terre.

II. Méthodes :

II.1 Caractérisation de la pomme de terre :

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

La teneur en eau est déterminée en séchant 100g de pomme de terre découpée en lamelle fines à 105°C jusqu'à poids constant. Le pourcentage d'eau est calculé selon l'équation suivante:

$$\mathbf{T_{eau}\ (\%) = [(P_F - P_S) / P_F] \times 100} \quad \text{……..(1)}$$

Où :

T_{eau} (%) : Teneur en eau, en pourcentage.

P_F : le poids de la pomme de terre fraiche (avant séchage) en g (100g).

P_S : le poids sec de la pomme de terre (après séchage) en g.

Pour déterminer la quantité d'amidon dans une pomme de terre fraiche, il faut :

- broyer 100g 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 **($P_{S\ amidon}$)**.
- sécher le retentât à 105°C jusqu'à poids constant. Cette masse correspond aux résidus cellulosiques (fibres cellulosiques) insolubles dans l'eau **($P_{S\ retentât}$)**.

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

$$\mathbf{T_{amidon}\ (\%) = [(P_{S\ amidon}) / P_F] \times 100} \quad \text{…….. (2)}$$

$$\mathbf{T_{résidus}\ (\%) = [(P_{S\ retentât}) / P_F] \times 100} \quad \text{…….. (3)}$$

I.2 Test de l'activité alpha-amylase :

Dans cette partie, nous testons l'alpha-amylase afin de confirmer son activité. Le but est de mesurer sa vitesse maximale, dans les concentrations saturantes en substrat sous les conditions déjà optimisées par **Abdesselam. I, Bennia. N, 2016** (pH6 T°=55C°). Le suivi de la réaction enzymatique se fait en mesurant la quantité d'amidon restante à chaque instant en utilisant une courbe d'étalonnage préétablie **(Cf. Annexe 2)**. Le Protocol 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.
3. Prélever 0.5ml du milieu réactionnel à T_0, 5 min, 10 min et 15 min. Faire des dilutions si nécessaire afin de mesurer la quantité d'amidon restante dans la gamme d'étalonnage.

4. Ajouter à chaque prélèvement (ou à sa dilution) 4.5 ml de HCl (0.1N) pour arrêter la réaction.
5. Ajouter à 1ml du mélange final 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 **(Annexe 2)**.

II.3 Liquéfaction de l'amidon de pomme de terre :

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).

Cependant, l'attaque enzymatique d'un amidon peu soluble constitue un problème ; car le substrat est peu accessible à certaines alpha-amylases. Notre priorité est donc d'appliquer la catalyse directement sur la pomme de terre fraiche afin d'éviter tout traitement qui peut rendre le procédé coûteux ou source de dégagement d'énergie. En cas de problème, le substrat doit être traité thermiquement pour le rendre plus accessible aux enzymes.

II.3.1 Tests Préliminaires de l'attaque enzymatique de la pomme de terre fraiche :

Selon les travaux de **Abdeslaem et Bennia, 2016**, l'alpha amylase catalyse la réaction d'hydrolyse de l'amidon à sa vitesse maximale dans les conditions suivantes : pH_{op}=6, $T°_{op}$=55°C à 30g/L d'amidon soluble selon un rapport E/S≈ 30 CEIP/g d'amidon, ce qui correspond à 2ml d'enzyme (44330,33 CEIP/ml) diluée au 1/1000 par 100ml de milieu réactionnel **(Abdesselam. I, Bennia. N, 2016)**.

Sur cette base, nous avons choisi pour nos tests préliminaires un rapport (m/V) de pomme de terre fraiche de 40g/100ml, ce qui correspond approximativement à 3g d'amidon/100ml (et donc 30g/l). Pour cela, le volume réactionnel (100ml) est calculé en tenant compte du volume d'eau contenu dans la matière végétale (33ml), nous avons donc complété le volume final par 67ml de tampon pH6.

Vu la nature insoluble de l'amidon à hydrolyser, les quantités d'enzyme testées sont :

- 2ml d'une dilution 1/1000 par 100ml de milieu réactionnel (E/S_{op}≈30 CEIP/g d'amidon) ;
- 2ml d'une dilution 1/100 par 100ml de milieu réactionnel (E/S≈300 CEIP/g d'amidon) ;
- 2ml d'une dilution 1/10 par 100ml de milieu réactionnel (E/S≈3000 CEIP/g d'amidon) ;

Essai 1:

1. Préparer deux suspensions en broyant 40g de pomme de terre fraiche dans 67 ml de tampon pH6. Une suspension est filtrée, la deuxième n'est pas filtrée.

2. Hydrolyser ces suspensions par addition de 2ml de l'enzyme diluée au (1/10,1/100,1/1000). L'hydrolyse s'effectue, sous agitation dans un bain-marie à température fixe (55c°) pendant 3h.

3. Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min.

4. Ajouter à chaque prélèvement 9 ml de HCl (0.1N) pour arrêter la réaction.

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

6. Observer la couleur.

La dégradation du broyat de la pomme de terre était peu satisfaisante. Ceci est du soit à l'insolubilité de l'amidon qui reste en suspension, soit à la présence de pesticides dans la pomme de terre et qui inhibent l'activité de l'enzyme ou à la concentration de l'amidon qui reste encore importante.

Pour cela, et pour répondre à ces hypothèses, nous avons essayé de tester l'amidon de maïs (aussi non soluble) à la même concentration 30g/l. Nous avons aussi testé une teneur plus réduite en pomme de terre (20g/100ml), ce qui correspond à une concentration en amidon de 15g/l (un rapport E/S= 6000CEIP/g d'amidon).

Essai 2:

1. Préparer 100 ml d'une suspension d'amidon de Maïs (30g/l) dans du tampon pH6,

2. Préparer deux suspensions de 100ml en broyant 20g de pomme de terre dans 84ml de tampon pH6. Une suspension est filtrée, l'autre est non filtrée.

3. Hydrolyser les trois suspensions par ajout de 2 ml d'une solution d'enzyme diluée au 1/10. L'hydrolyse s'effectue sous agitation, dans un bain-marie à 55°C pendant 3H30min.

4. **Suivie de l'hydrolyse** : Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter deux gouttes de HCl concentré pour arrêter la réaction. le suivie de l'hydrolyse est amélioré en testant directement le milieu concentré avec l'iodine 0,001N (1ml + 2,4 ml d'iodine). Pour mieux estimer la quantité de matière en suspension ainsi que la dégradation de la couleur, nous avons dilué le prélèvement révélé à l'iodine au 1/5 avec du HCl 0,1N. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc.

Essai3 :

Pour rendre l'amidon de pomme de terre accessible à l'hydrolyse enzymatique, nous avons aussi pensé:

- à ajouter dans le milieu de la gomme arabique à 3% pendant la liquéfaction d'une suspension de 20g/100ml (avec un rapport E/S= 6000CEIP/g d'amidon). Ceci a pour but de faciliter le contact enzyme substrat. Il faut noter que nous avons homogénéisé le milieu après addition de la gomme arabique en utilisant un homogénéiseur.
- à libérer l'amidon des fibres cellulosiques en faisant un prétraitement de 4H à la cellulase (à 1mg/100ml) d'une suspension de 20g/100ml à pH5 et à 37°C. Cette suspension a subit une liquéfaction par la suite avec un rapport E/S= 6000CEIP/g d'amidon.
- à changer le type l'alpha-amylase utilisée en testant des comprimés de Maxilase pendant la liquéfaction d'une suspension de 20g/100ml (15g d'amidon/l) avec un rapport E/S de 6000 CEIP/g d'amidon (3comprimés 3000CEIP/100ml).
- Le suivie de l'hydrolyse se fait en testant directement 1ml du milieu (après arrêt de la réaction par acidification) avec 2,4 ml d'iodine 0,001N. Pour mieux estimer la quantité de matière en suspension ainsi que la dégradation de la couleur, nous avons dilué le prélèvement révélé à l'iodine au 1/5 avec du HCl 0,1N. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc

II.3.2 Attaque enzymatique de l'amidon de pomme de terre traitée thermiquement :

Tout d'abord, nous avons commencé par un essai de faisabilité en dispersant quatre broyats (filtrés et non filtrés) de 20g/100ml à 130°C, pendant 1 heure. La liquéfaction de ces suspensions a été réalisée avec les deux types d'alpha-amylase (la BAN et Maxilase). La méthode de dispersion a été adoptée par **Abdesselam. I, Bennia N, 2016** afin de rendre accessible l'amidon de maïs à la liquéfaction. La méthode est aussi utilisée pour solubiliser l'amidon lors des tests de l'activité alpha-amylase **(Thivend. P et al., 1965)**. Le résultat étant satisfaisant, nous avons commencé par la suite les travaux d'optimisation.

Le premier paramètre optimisé est le rapport E/S en variant la quantité d'enzyme : l'objectif est de fixer un rapport optimal qui permet d'aboutir à une liquéfaction satisfaisante dans un délai adéquat en utilisant une quantité adéquate d'enzyme (sans gaspillage). Nous avons ensuite pensé à tester l'efficacité de la liquéfaction avec le rapport E/S optimal en milieu plus concentré.

Une fois la nécessité du traitement thermique du substrat a été prouvée, nous avons pensé par la suite à optimiser la température en testant des températures moins importantes avec le rapport optimal en milieux dilués et concentrés.

a) Faisabilité de la dispersion :

1. Prépare quatre suspensions de 20 g de pomme de terre et 84 ml d'une solution tampon pH6
2. Dispersion à l'autoclave pendants 1heure à130C°
3. Commencer l'hydrolyse dans un bain-marie à 55°C en ajoutant à deux suspensions 2ml de solution enzymatique diluée (1/10), et aux deux autres 3 comprimés broyés de maxilase.
4. Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter deux gouttes de HCl concentré pour arrêter la réaction. le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu concentré avec l'iodine 0,001N (1ml + 2,4 ml d'iodine). Le prélèvement révélé est dilué à l'iodine au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

b) Effet de la concentration d'enzyme (Optimisation du rapport E/S):

1. Préparer 100ml de broyats avec 20g de pomme de terre et 84 ml d'une solution tampon pH6.
2. Disperser à l'autoclave pendant 1h à 130C°.
5. Commencer l'hydrolyse dans un bain-marie à 55°C en ajoutant à chaque suspension dispersée 2ml de solution enzymatique diluée. Les dilutions testées varient de 1/10 au 1/300.
6. Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter deux gouttes de HCl concentré pour arrêter la réaction. le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu concentré avec l'iodine 0,001N (1ml + 2,4 ml d'iodine). Le prélèvement révélé est dilué à l'iodine au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

c) Effet de la concentration du substrat (catalyse en milieu concentré):

1. Préparer des broyats de pomme de terre (Volume Final=100ml) avec 40g (+67ml de tampon pH6) et 80g (+ 34ml de tampon pH6) de pomme de terre fraiche.
2. Disperser les suspensions dans l'autoclave à 130 C° pendant 1h.
3. Commencer l'hydrolyse par ajout de 4ml et 8ml de l'enzyme diluée (1 /240) aux suspensions 40g/100ml et 80g/100ml respectivement. Le même rapport E/S est donc testé, seulement en milieux plus concentrés. L'hydrolyse s'effectue dans un bain-marie à 55c°.

4. Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter deux gouttes de HCl concentré pour arrêter la réaction. le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu concentré avec l'iodine 0,001N (1ml + 2,4 ml d'iodine). Le prélèvement révélé est dilué à l'iodine au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

Vu que le milieu est plus concentré en substrat, la pomme de terre après traitement thermique devient plus onctueuse et le volume du milieu est réduit ce qui peut interférer l'agitation, et donc le contact enzyme-substrat et par conséquent l'efficacité de la liquéfaction. C'est la raison pour laquelle, nous avons testé une deuxième série de 40g/100ml et 80g/100ml, mais en régénérant une partie du fluide perdu (évaporé et/ou absorbé) c.à.d. en ajoutant une quantité de tampon nécessaire à rendre le milieu fluide. Cette quantité correspond à 40ml de tampon pH6 pour les deux teneures testées.

d) Effet de la température :

1. Préparer trois séries de Broyats non filtrés de 100ml avec de 20g, 40g et 80g de pomme de terre fraiche dans 84ml, 67ml et 34ml de tampon pH 6 respectivement.
2. Traiter thermiquement 100°C, 115°C et 130°C pendant 1h.
3. Ajouter 40ml de tampon pH6 aux deux suspensions dispersées : de 40g et 80g.
4. Hydrolyser la solution par l'ajout 2ml, 4ml et 8ml de solution enzymatique diluée au (1/240) pour les suspensions dispersées de 20g, 40g et 80g respectivement. Ce qui permet de travailler avec le même rapport E/S. L'hydrolyse s'effectue dans un bain-marie à 55°C.
5. Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter deux gouttes de HCl concentré pour arrêter la réaction. le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu concentré avec l'iodine 0,001N (1ml + 2,4 ml d'iodine). Le prélèvement révélé est dilué à l'iodine au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

II.3.3 Attaque enzymatique de l'amidon de pomme de terre traité thermiquement puis conservé par séchage (Fécule de pomme de terre):

Dans cette partie, nous avons essayé de mettre au point une possibilité de conservation de la matière végétale de mauvaise qualité, en surproduction en vu de l'utiliser pour produire du bioéthanol. C'est la raison pour laquelle nous avons testé la liquéfaction de la fécule de pomme de terre cuite à100°C, broyée puis séchée à 100°C.

Les essais d'optimisation du rapport E/S se font en variant la quantité d'enzyme pour une quantité fixe en substrat. Nous avons par la suite testé l'efficacité de la liquéfaction avec deux rapports E/S en milieux plus concentrés.

a) Faisabilité :

1. Préparer une suspension avec 100 ml de tampon pH6 et 3g de fécule sèche.

2. Hydrolyser la solution par ajout de 2ml d'enzyme diluée au (1 /10). L'hydrolyse s'effectue dans un bain-marie à 55°C.

3. Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter deux gouttes de HCl concentré pour arrêter la réaction. le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu concentré avec l'iodine 0,001N (1ml + 2,4 ml d'iodine). Le prélèvement révélé est dilué à l'iodine au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

b) Effet de la concentration de l'enzyme : Optimisation de rapport E/S

1. Préparer des suspensions avec 100 ml de tampon pH6 et 3g de fécule sèche.
2. Hydrolyser ces suspensions en ajoutant 2ml de l'enzyme diluée (1/10, 1/20, 1/40, 1/50). L'hydrolyse s'effectue dans un bain-marie à 55°C.
3. Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter deux gouttes de HCl concentré pour arrêter la réaction. le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu concentré avec l'iodine 0,001N (1ml + 2,4 ml d'iodine). Le prélèvement révélé est dilué à l'iodine au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

c) Effet de la concentration du substrat (catalyse en milieux concentrés).

1. Préparer deux suspensions de fécule sèche pH6 à 6g/100ml et deux suspension à 12g/100ml.
2. Hydrolyser les suspensions de 6g/100ml par addition de 2ml et 4ml d'enzyme diluée (1/10). Les suspensions de 12g/100ml sont traitées par 4ml et 8ml d'enzyme diluée au (1/10). L'hydrolyse s'effectue dans un bain-marie à 55°C.
3. Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter deux gouttes de HCl concentré pour arrêter la réaction. le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu concentré avec l'iodine 0,001N (1ml + 2,4 ml d'iodine). Le prélèvement révélé est dilué à l'iodine au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

II.4 Saccharification:

Cette partie a pour objectif de terminer l'hydrolyse de la pomme de terre déjà liquéfiée 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.

D'une façon générale, la saccharification a été réalisée au bain marie sous agitation dans les conditions suivantes :

- pH=4 ;
- Température =50°C ;
- Une quantité de glucoamylase :
  - de 6,4g/l (0,64g/100ml) pour :
    - ✓ les suspensions de pomme de terre à 40g/100ml, traitée thermiquement et liquéfiées,
    - ✓ les suspensions de fécule à 6g/100ml liquéfiées.
  - de 12,8 g/l (1,28 g/100ml) pour:
    - ✓ les suspensions de pomme de terre à 80g/100ml, traitée thermiquement et liquéfiées,
    - ✓ les suspensions de fécule à 12g/100ml liquéfiées.

- Une durée de temps de 6H.

Le Glucose libéré durant la saccharification est dosé en utilisant un Kit enzymatique de dosage du Gluse (type QCA). La méthode de dosage ainsi que la courbe d'étalonnage sont expliquées en **(Annexe 2)**.

II.5 Fermentation:

Les suspensions de pommes de terre déjà liquéfiées et saccharifiée subissent par la suite une fermentation afin de produire le bioéthanol.

Pour se limiter aux concentrations optimales donnant un rendement maximum de production d'éthanol déjà optimisées par les travaux de **Salhi. A, Bochher .S, 2015**, nous avons dilué les suspensions après saccharification avec de l'eau minérale jusqu'à un volume final de 250ml. Apres ajustement du pH à 5, les suspensions sont autoclavées à 120°C pendant 20min.

Les suspensions autoclavées vont servir de milieux de culture pour la fermentation. Elles ne sont pas additionnées de sources d'azote, ni de source de phosphore, ni d'extraits de levure, car la pomme de terre contient des éléments qui peuvent servir de sources alternatives (protéines, Thiamines, Riboflavine, Vitamine C, Niacine, oligoéléments : fer, calcium, potassium…) **(Cf.**

partie bibliographique). Les milieux ainsi obtenus sont ensemencés devant le bec bunsen avec un inoculum initial de 4g/l (1g/100ml) déjà optimisé par les travaux de **Salhi. A et Bochher .S, 2015**.

Durant la fermentation, nous avons suivi la concentration en glucose et en éthanol (par un capteur d'éthanol) à 24H, 36H et 48H afin de savoir le moment où il faut arrêter la fermentation et réaliser la séparation de l'éthanol par distillation.

II.6 Distillation d'éthanol :

C'est une séparation de mélanges miscibles possédant des températures d'ébullition différentes.

Lorsque le glucose est complètement consommé, nous jugeons que la fermentation est terminée. Le moût de fermentation est placé dans un ballon puis chauffé à environ 78°C **(Figure 10)** afin de le distiller l'éthanol et le séparer de l'eau (Température d'ébullition ≈90°C).

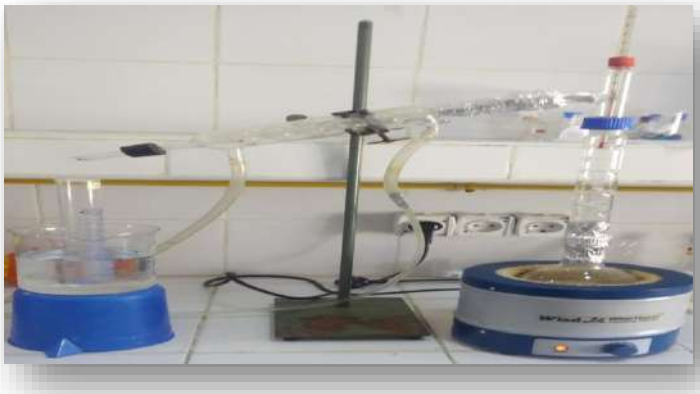


Figure 13: Montage de distillation.

II.7 Analyse de l'éthanol récupéré :

L'éthanol produit durant la fermentation est dosé par deux moyens : un capteur d'éthanol (dosage direct dans le milieu de fermentation) et par réfractométrie (Dosage indirecte sur le distillat) en utilisant les courbes d'étalonnage en **(Annexe 2)**.

L'éthanol distillé est contrôlé par deux méthodes :

- ✓ **Le test au dichromate de potassium:** En milieu acide l'éthanol (CH_3-CH_2OH) est oxydé en acide acétique (CH_3-COOH) en présence de dichromates ($Cr_2O_7^{-2}$). Ces derniers subissent une réduction en ions Cr^{3+} responsables de la coloration vert foncé de la solution, selon la réaction d'oxydoréduction suivante :

$$Cr_2O_7^{-2} + 14\,H^+ + 6e^- \longrightarrow 2\,Cr^{+3} + 7H_2O \text{ .....(X 2)}$$

$$CH_3\text{-}CH_2OH + H_2O \longrightarrow CH_3\text{-}COOH + 4\,H^+ + 4e^- \text{.....(X 3)}$$

$$2\,Cr_2O_7^{2-} + 3\,CH_3\text{-}CH_2OH + 16\,H^+ \longrightarrow 4\,Cr^{3+} + 3\,CH_3\text{-}COOH + 11\,H_2O.$$

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.

- ✓ **Spectrophotométrie infrarouge:** Dans le but de confirmer la structure de l'éthanol distillé nous avons réalisé une analyse par spectroscopie infrarouge. Pour cela, le distillat est déposé dans une cuve de quartz placée dans le trajet optique d'une radiation infrarouge. Le spectre obtenu est comparé avec celui d'une molécule pure (Ethanol 99%).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. Résultat et Discussion

I.1 Caractérisation de la pomme de terre:

Le teneur en eau de la pomme calculée selon l'équation 1 est de 83%. La quantité de la matière sèche est donc 17% dont 8,5% représente l'amidon **(Figure 14).**

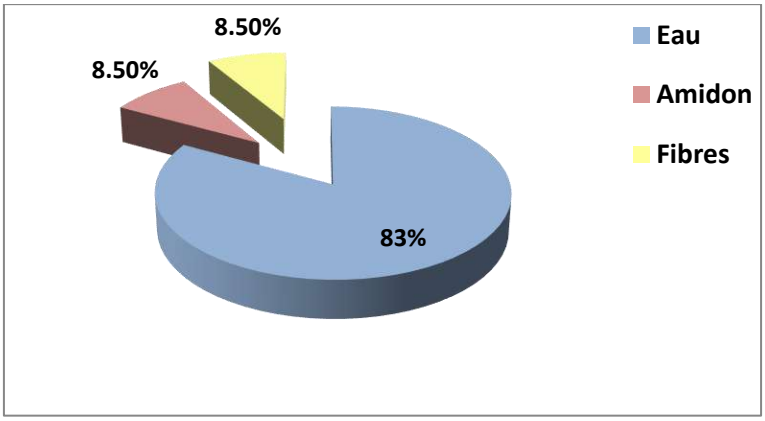


Figure 14 : Composition de la pomme de terre (Pourcentages en eau, amidon et fibres).

Nos résultats concordent bien avec les données bibliographiques. Selon un rapport du FAO (Organisation des nations unies pour l'alimentation) **(FAO, 2008, rapport 1)**; les teneurs en eau au niveau de la pomme de terre fraîche est estimée de 77%, alors que la quantité d'hydrates de carbones est aux environs de 20% (cellulose+amidon). Un rapport plus détaillé de la même organisation affirme que la quantité de fibres peut varier de 0,3% à 3,3%, alors que l'amidon varie de 9% à 22% **(FAO, 2008, rapport 2)**. D'autres auteurs signalent des taux de 78% et 19% pour l'eau et les glucides respectivement **(Arvy. M.P et Gallouin. F, 2007 ; Richonnet.C, 2004)**. **Delaplace. P, 2007** 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).

I.2 Test de l'activité alpha-amylase :

Les résultats représentés sur **la Figure15** 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 dégradé au bout de 15min pour les concentrations initiales de 10g/l et 20g/l alors qu'un palier situé aux environs de 15g/l est obtenu à partir de 15min pour une concentration initiale de 30g/l.

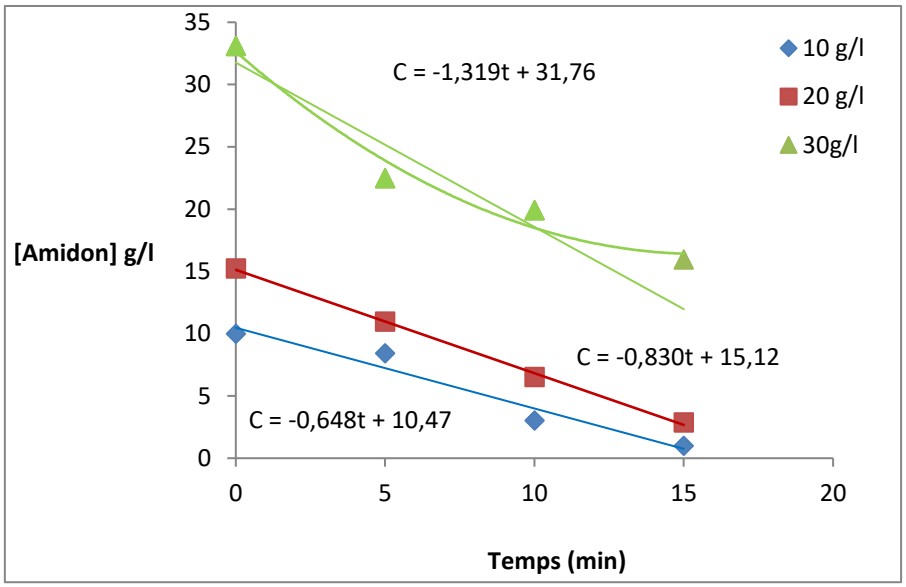


Figure 15 : Cinétique de dégradation de l'amidon par l'alpha-amylase à pH6, T°=55°C.

La représentation des vitesses initiales obtenues à partir des pentes des tangentes tracées au niveau des phases linéaires en fonction des concentrations initiales en amidon **(Figure 15)** nous donne une courbe hyperbolique, appelée courbe de saturation de l'enzyme par le substrat, où ce modèle représente la cinétique de Michaelis-Menten **(Figure 16)**:

$$V = \frac{Vmax.[S]}{Km+[S]} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textbf{(4)}$$

A partir la courbes de saturation, nous pouvons déterminer les constantes Km et Vmax de l'équation de Michaelis- Menten. Vmax correspond à la vitesse maximale pour une concentration saturante en substrat. Km (constante de Michaelis) est inversement proportionnel à l'affinité (Km^{-1}) de l'enzyme pour son substrat. L'affinité de l'enzyme pour son substrat diminue avec la constante de Michaelis. Cette dernière peut être définie comme la concentration en substrat par extrapolation de la moitié de la vitesse maximale sur l'axe des abscisses de la courbe de Michaelis Menten. La vitesse maximale obtenue expérimentalement et tirée à partir de la courbe de saturation **(Figure 16)** est approximativement **1,32g/l/min** avec un Km de **10g/l,** ce qui correspond à une affinité 1/KM de **0,1 l/g**. Pour notre travail, nous étions dans l'obligation de tester au maximum une concentration de 30g/l car à partir de cette concentration la solubilité d'amidon est très réduite. Les valeurs de Vmax et Km tirées directement à partir de la courbe de saturation sont très proches de celle trouvées par **Absesslam. I et Bennia**. **N, 2016 (Vmax réel =1,33g/l/min avec un Km=7,5g/l).**

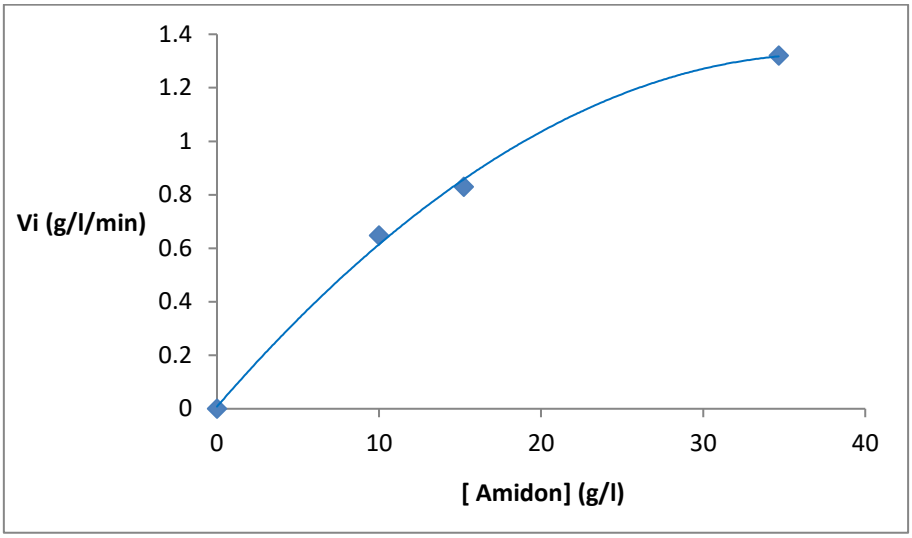


Figure 16 : Courbe de saturation de l'alpha-amylase : Evolution la vitesse initiale (Vi) en fonction de la Concentration initiale en amidon.

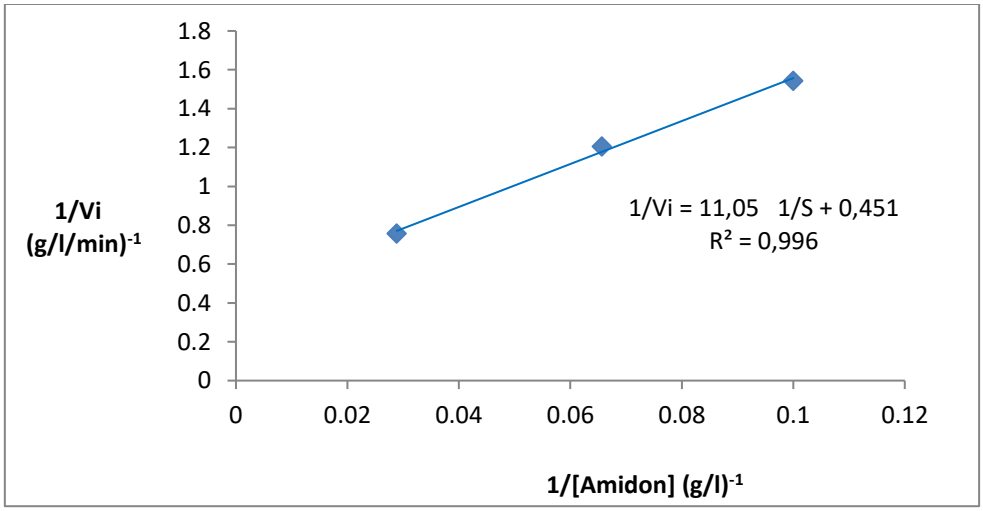


Figure 17 : Représentation graphique de la linéarisation de lineweaver-burk.

La courbe de saturation étant non linéaire, il est difficile d'évaluer précisément les valeurs de Km et Vmax. Pour cela, nous avons essayé d'appliquer la linéarisation de lineweaver-burk **(Figure 17)** selon l'équation :

$$\frac{1}{V} = \frac{Km}{Vmax} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{Vmax} \text{ .....(5)}$$

La représentation graphique de Lineweaver–Burk **(Figure 17)** permet d'obtenir une droite linéaire. D'après l'équation, nous avons un **V_{max}= 2,21g/l/min et K_m=24,4 g/l**, l'affinité (1/Km) = **0,041 l/g.** Les valeurs de Vmax et Km ne correspondent pas à ceux trouvés expérimentalement **(v_{max}=1,32g/l/min** et **Km=10g/l** et donc une affinité **1/Km de 0,1 l/g**). Le modèle est dans notre cas peu représentatif, car il tient compte d'une solubilité idéale de l'amidon utilisé, alors que sur le plan pratique, nous avons travaillé avec un amidon très difficile à solubiliser, même à des concentrations inférieur à 30g/l. De plus, ce modèle prédit des vitesses initiales à des concentrations saturantes en substrat supérieures à 30g/l, ce qui est pratiquement impossible, car la solubilité de l'amidon est très réduite à partir de 30g/l.

Bilan du test de l'activité enzymatique :

- **$V_{max\ réelle}$=1,32g/l/min,** ce qui correspond dans un volume réactionnel de **100ml 0,132 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 **0,132g /min/0,5ml d'enzyme diluée au 1/1000**,
- La vitesse ou l'activité enzymatique par **ml d'enzyme diluée au 1/1000** est de **0,264 g/min/ml**,
- L'activité enzymatique par **ml d'enzyme pure** est de **264 g/min/ml**.
- En convertissant l'activité en g/min/ml en (mg/s/ml), nous avons **4400 mg/s/ml d'enzyme pure**.
- En unité CEIP (mg/10s/ml), nous avons **44000 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. 10^6 unités CEIP /100 ml ce qui correspond à 37000 à 41000 CEIP/ml. L'activité enzymatique de l'alpha-amylase mesurée dans les conditions optimales (pH6 et T°=55°C) est donc très proche (44000 CEIP/ml). Des résultats similaires ont été trouvés par **Absesslam. I et Bennia**. **N, 2016** (Activité réelle= 44333,33CEIP/ml).

I.3 Liquéfaction de l'amidon de pomme de terre :

I.3.1 Tests préliminaires de l'attaque enzymatique de la pomme de terre fraîche :

Essaie 1 :

L'hydrolyse de l'amidon de pomme de terre fraiche est observée directement après ajout de l'iodine. La couleur bleu du précipité d'amidon (suspensions de pomme de terre filtrées ou non) atteste l'absence de l'hydrolyse enzymatique ; car, l'iode moléculaire est adsorbé par les molécules d'amidon et il se forme un complexe bleu foncé plus ou moins intense selon la concentration. La liquéfaction est jugée positive lorsque le précipité devient jaunes-marron : couleur du réactif. Les résultats des prélèvements sont représentés sur le **tableau 6.** Les couleurs des prélèvements sont représentées sur la **figure18**.

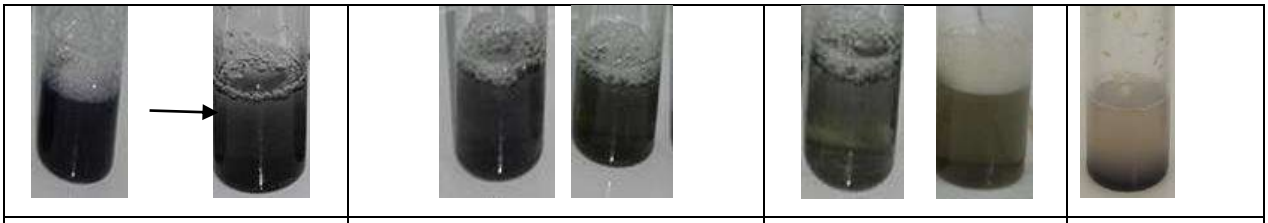
D'une façon générale, à part le rapport E/S le plus faible, nous avons une dégradation de la couleur avec l'avancement de l'hydrolyse. Cette dégradation est plus rapide et aussi plus accentuée avec l'augmentation de la concentration de l'enzyme. Il apparait aussi que la présence des fibres cellulosiques au niveau des suspensions non filtrées dérange l'hydrolyse, car la dégradation de la couleur dans ce cas n'est pas nette.

Il faut noter que les suspensions ont été filtrées après 24H de traitement, séchées à 105°C puis pesées. Les rendements d'hydrolyses ont été calculés par rapports à des broyâtes témoins de mêmes natures non catalysés, filtrés et séchés à 105°C. Les rendements obtenus sont représentés sur la **figure 19**.

Tableau 6 : Couleurs des prélèvements après révélation à l'iodine.

<table>
<tr><th>Dosage de l'enzyme</th><th colspan="2">1/1000
(E/S=30 CEIP/g)</th><th colspan="2">1/100
(E/S=300 CEIP/g)</th><th colspan="2">1/10
(E/S=3000 CEIP/g)</th></tr>
<tr><th>Nature du broyat</th><th>F</th><th>NF</th><th>F</th><th>NF</th><th>F</th><th>NF</th></tr>
<tr><td>0min</td><td rowspan="7">Bleu foncé</td><td rowspan="7">Bleu Foncé</td><td rowspan="5">Bleu Foncé</td><td rowspan="7">Bleu Foncé</td><td rowspan="2">Bleu Foncé</td><td rowspan="5">Bleu Foncé</td></tr>
<tr><td>30min</td></tr>
<tr><td>60min</td><td rowspan="4">Bleu</td></tr>
<tr><td>90min</td></tr>
<tr><td>120min</td></tr>
<tr><td>150min</td><td rowspan="2">Bleu</td><td rowspan="2">Bleu verdâtre</td><td rowspan="2">Bleu</td></tr>
<tr><td>180min</td></tr>
<tr><td>24H</td><td>Bleu foncé</td><td>Bleu Foncé</td><td>Bleu</td><td>Bleu Foncé</td><td>Bleu verdâtre</td><td>Bleu</td></tr>
<tr><td>24H pure</td><td colspan="6">Bleu violacé (Iodine est ajoutée directement à 1ml du prélèvement pure)</td></tr>
</table>

F: broyât filtré, **NF:** Broyât non filtré.



Bleu foncé	Bleu	Bleu verdâtre	Bleu violacé

Figure 18 : Photos correspondantes aux couleurs notées sur le tableau 6.

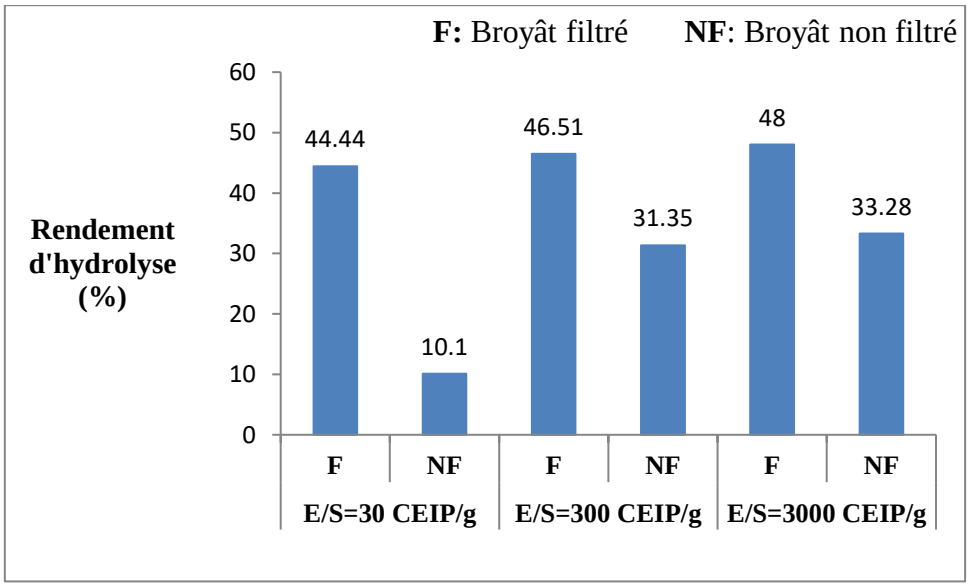


Figure 19 : Le Rendement de liquéfaction des broyats de pomme de terre fraiche par l'alpha-amylase aux différentes concentrations.

Le rendement de l'hydrolyse augmente avec la quantité de l'enzyme ; Cependant, il reste insuffisant même pour le rapport (E/S) le plus élevé (48% pour le broyât filtré et 33% pour le broyât non filtré). Il apparait aussi que la filtration élimine les fibres de cellulose insoluble dans l'eau et améliore les rendements d'hydrolyse pour les mêmes rapports E/S **(Figure 19)**.

La dégradation enzymatique du broyât de pomme fraiche est donc peu satisfaisante. Ceci est attribué à :

- L'inaccessibilité de l'amidon pour l'enzyme, car il est insoluble dans le milieu,
- à la présence de pesticides dans la pomme de terre et qui peut inhiber la réaction enzymatique ;
- à la quantité de l'amidon insoluble qui est encore importante.

Au niveau de l'Essai 2, nous avons essayé de répondre à ces hypothèses.

Essai 2:

Pour répondre aux hypothèses émises à l'essai 1, nous avons testé l'amidon de maïs (aussi non soluble) à la même concentration 30g/l avec le rapport E/S le plus élevé donnant le rendement le plus important à l'essai1 (3000 CEIP/g d'amidon). Nous avons aussi testé une teneur plus réduite en pomme de terre (20g/100ml), ce qui correspond à une concentration en amidon de 15g/l (un rapport E/S= 6000CEIP/g d'amidon. Les résultats sont représentés sur les **figures 20 et 21.**

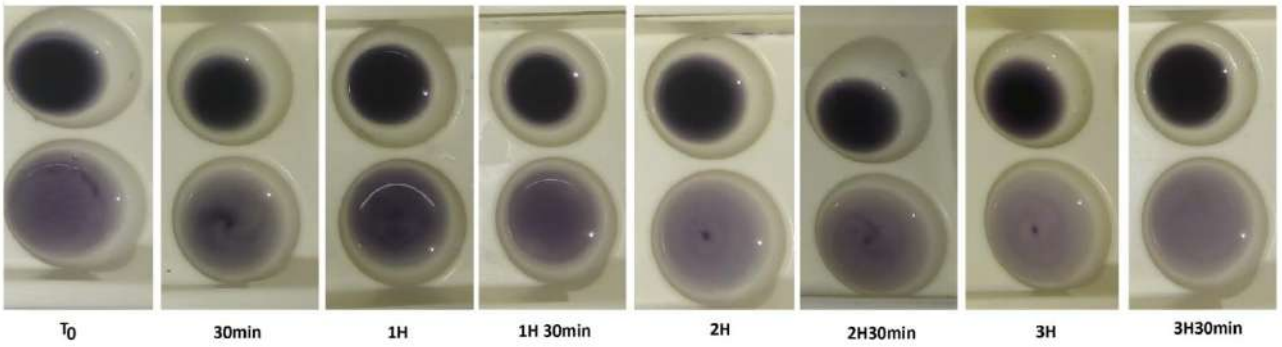


Figure 20: Liquéfaction de l'amidon de maïs (30g/l, E/S=3000CEIP/g d'amidon).

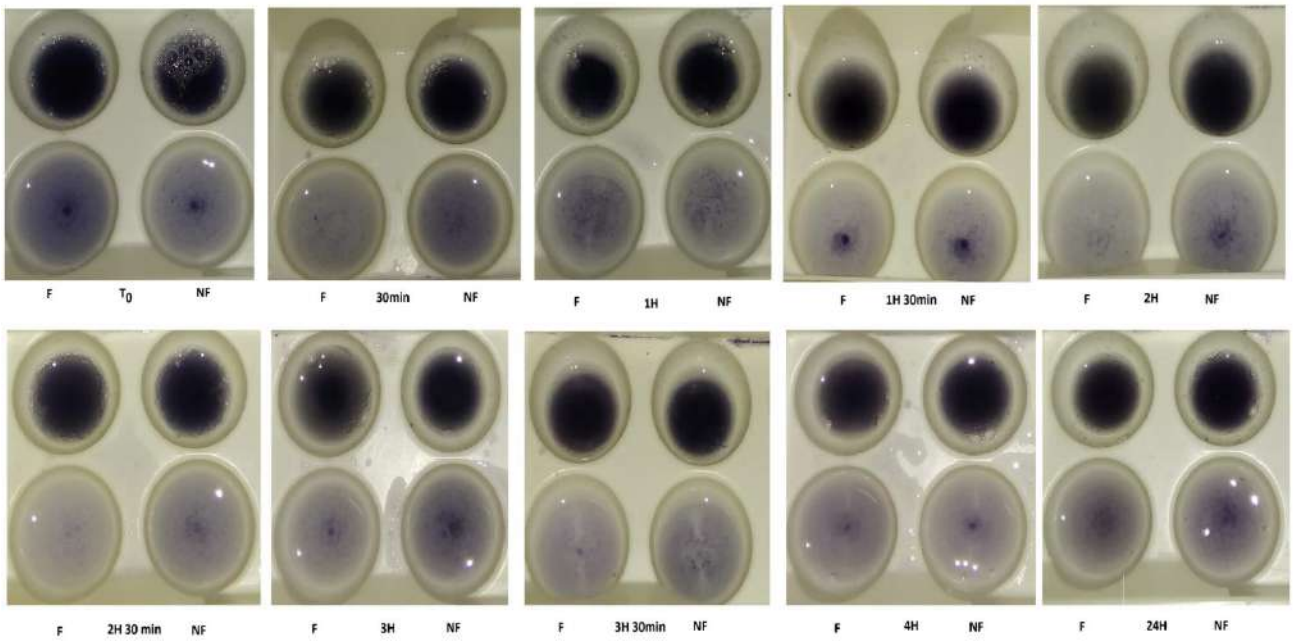


Figure 21: Liquéfaction de l'amidon de pomme de terre fraîche (15g/l, E/S=6000CEIP/g d'amidon).

Les résultats obtenus sont similaires à ceux de l'essai 1. La dégradation de la couleur bleu après révélation est minime. La liquéfaction est donc peu satisfaisante pour l'amidon de maïs et aussi pour l'amidon de pomme de terre même avec un rapport E/S encore plus élevé.

Il faut signaler que l'amidon de maïs à froid n'est pas soluble (comme l'amidon de pomme de terre) et il ne contient pas de trace de pesticide. En conclusion, la liquéfaction de la pomme de terre fraîche est peu efficace à cause de l'insolubilité de son amidon.

Essai 3 :

Afin d'améliorer le contact Enzyme-substrat, nous avons pensé à réaliser un test en présence de gomme arabique ou après traitement à la cellulase. Nous avons aussi testé un autre type d'alpha-amylase (maxilase) susceptible d'avoir une plus grande affinité vis-à-vis de l'amidon insoluble. Cette partie est réalisée avec le plus grand rapport (E/S) testé pendant les deux essais précédents (6000CEIP/g d'amidon) et en utilisant des broyâts de pomme de terre filtrés et non filtrés. Les résultats représentés sur **la figure 22,** correspondent aux Broyât filtrés.

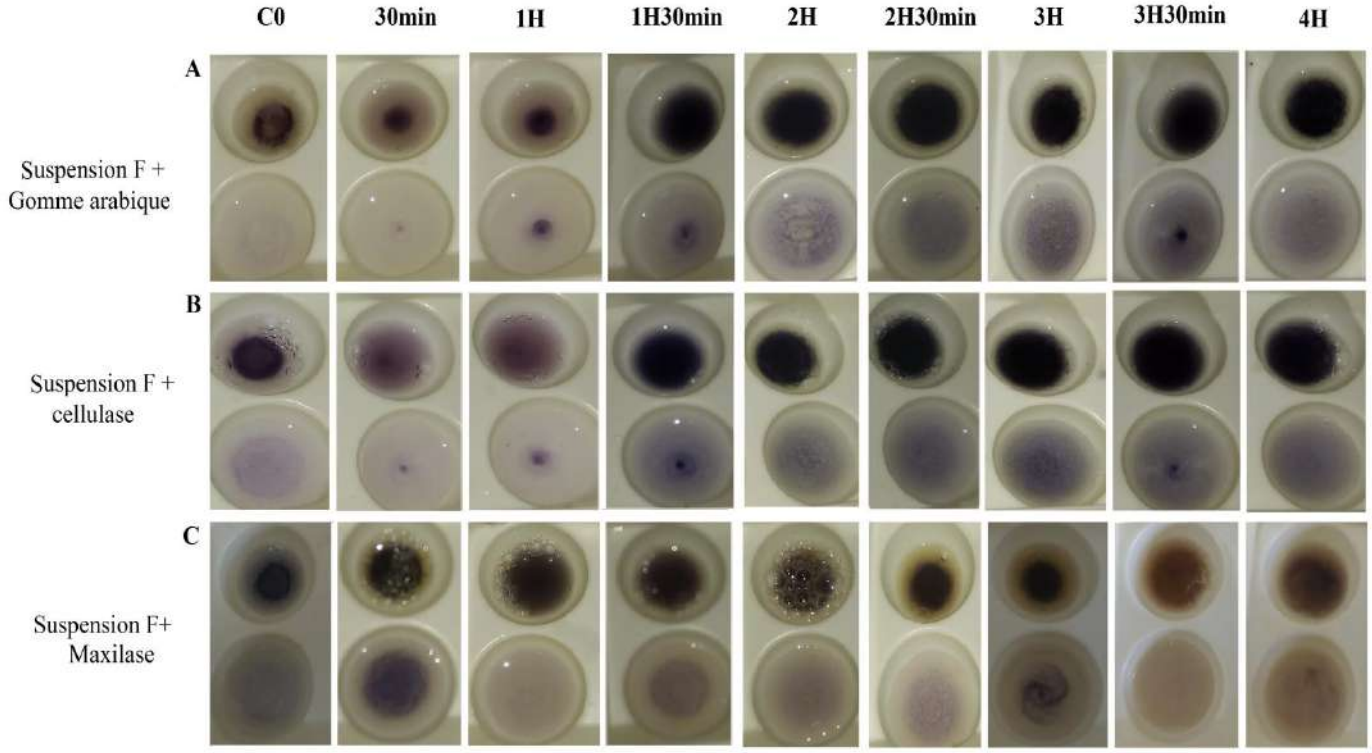


Figure 22 : Liquéfaction de l'amidon de pomme de terre fraîche (15g/l, E/S=6000CEIP/g d'amidon). **A :** En présence de gomme arabique + alpha-amylase. **B :** Apres traitement à la cellulase puis liquéfaction par l'alpha-amylase. **C:** En présence de maxilase.

Il apparait que la présence de gomme arabique dans le milieu et le prétraitement par la cellulase n'améliorent pas le contact amidon-alpha-amylase : sur une durée de 4H, la révélation à l'iodine indique une mauvaise dégradation de l'amidon, car la couleur reste bleu attestant la présence d'amidon non hydrolysé. Les broyâts non filtrés (résultats non illustrés) ont été aussi testés. Les résultats sont identiques avec ceux des broyât filtrés.

Par contre, nous notons que la maxilase (au même rapport E/S) donne un résultat meilleur que celui de la BAN-alpha-amylase sans prétraitement à la cellulase et sans usage de la gomme arabique. La couleur après révélation à l'iodine commence à virer vers le marron à partir de 3H ; cependant, les matières en suspensions persistent avec une couleur bleu foncé attestant la présence d'amidon. Ceci indique que la Maxilase a attaqué uniquement les matières en suspension fines. Ce résultat est plus nette avec le broyât filtré **(Figure 22)** par rapport au broyât non filtré (résultat non illustré).

Conclusion :

Le problème de l'amidon au niveau de pomme de terre fraîche (brut) réside dans :

- son insolubilité et donc son accessibilité réduite à l'enzyme : la maxilase attaque mieux cette forme que la BAN-alpha-amylase mais son hydrolyse n'est pas complète et se limite surtout aux suspensions fines;
- l'existence de couches concentriques autour du grain d'amidon qui causent des résistances à la pénétration des enzymes et à l'attaque enzymatique;
- sa teneur en amylose qui est importante (17% à 22%).

Une remarque à signaler, que les travaux déjà optimisés sur la catalyse de l'amidon soluble par la BAN-alpha-amylase **(Abdesslam. I et Bennia. N, 2016)** ont été surtout bénéfiques au niveau des conditions physicochimiques optimales nécessaires à la catalyse de cette enzyme (pH6 et Température de 55°C). Cependant, le rapport (E/S) optimale **(30 CEIP/g d'amidon)** pour l'amidon soluble ne s'applique pas l'amidon insoluble. Il est donc préférable de travailler d'une façon plus pratique dans la suite de notre étude et exprimer aussi le rapport E/S par rapport à la matière sèche.

Le plus grand rapport testé dans notre étude (6000CEIP/g d'amidon) n'as pas aboutit à un résultat satisfaisant surtout avec la BAN alpha-amylase. L'amélioration apportée par la maxilase n'est pas un argument fort pour choisir cette enzyme pour le traitement du substrat brut, car son prix est important et la quantité utilisée est aussi importante : raison pour laquelle nous avons préféré d'appliquer le traitement thermique afin de libérer l'amidon à partir de ces grains (en structure cristalline) et le solubiliser dans le milieu d'hydrolyse.

I.3.2 Attaque enzymatique de l'amidon de pomme de terre traitée thermiquement :

a)Faisabilité de la dispersion :

Dans cette partie, nous avons testé la liquéfaction de quatre broyâts (filtrés et non filtrés) dispersés pendant 1heure à 130°C en utilisant un rapport E/S de 6000CEIP/g d'amidon. Cette

opération a été réalisée en utilisant les deux types d'alpha-amylases (BAN et Maxilase). Il faut signaler qu'un rapport E/S= 6000CEIP/g d'amidon est équivalent à 3000CEIP/g de MS (≈2600 CEIP/g de MS). Les résultats sont illustrés sur la **Figure 23.**

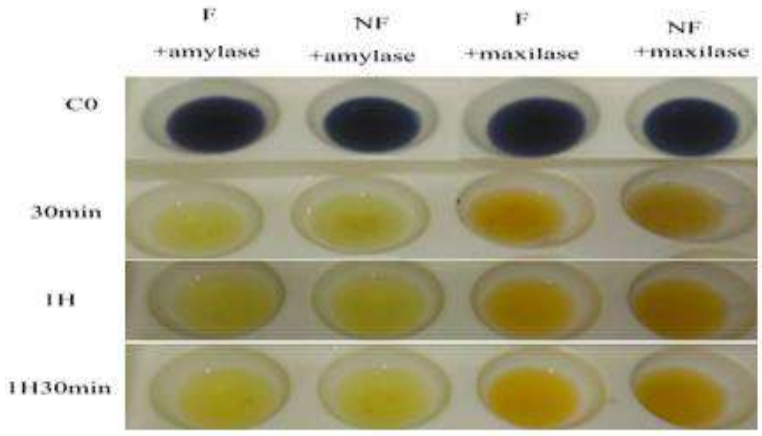


Figure 23 : Effet de la dispersion à 130°C sur la liquéfaction de l'amidon de pomme de terre par la BAN alpha-amylase et la maxilase**.**

Les résultats étaient satisfaisant des les premières 30min **(Figure 23)** : les deux enzymes catalysent efficacement la dégradation de l'amidon, la couleur après révélation à l'iodine s'avarie jaune des le premier prélèvement quelque soit le nature du Broyât traité (filtré ou non filtré).

A température ambiante, les grains d'amidon natifs sont insolubles dans l'eau. En présence d'un excès d'eau et à une température supérieure à 60 °C, le grain d'amidon passe successivement par trois états: gonflement, gélatinisation et solubilisation. La majorité des applications de l'amidon comporte un traitement préalable de dispersion du contenu granulaire : c'est la gélatinisation. Le gonflement s'accompagne de la fusion des cristallites et d'une libération progressive de molécules de petites masses moléculaires et solubles dans l'eau, venant de l'amylose et de l'amylopectine, jusqu'à l'éclatement de la structure granulaire et la libération totale des macromolécules d'amidon **(Nayouf. M et al; 2003)**

Il apparait nettement que les deux enzymes ont la même efficacité sur un amidon dispersé et que la présence des fibres cellulosiques ne dérange pas la catalyse après traitement thermique. Par conséquent, pour la suite de notre travail nous choisissons la BAN-alpha-amylase, car elle est moins coûteuse et nous traitons directement le broyât sans filtration. Ceci nous élimine une étape supplémentaire qui peut rendre le procédé plus complexe et coûteux.

b) Effet de la concentration d'enzyme (Optimisation du rapport E/S):

Dans cette partie, nous avons varié la quantité de l'enzyme dans le milieu réactionnel. Le rapport E/S varie donc de 6000CEIP/g d'amidon (3000 CEIP/g MS) (pour 2ml d'enzyme au 1/10) à 200 CEIP/g d'amidon (100 CEIP/g MS) (pour 2ml d'enzyme au 1/300). Les résultats **(Figure 24)** montrent que le temps de virage de la couleur après révélation à l'iodine varie en fonction de la quantité d'enzyme. Il est de :

- ✓ 30min pour les dilutions allant de 1/10 à 1/50 ;
- ✓ 1H pour les dilutions : 1/60, 1/70 et 1/80 ;
- ✓ 1H 30min pour les dilutions allant de 1/100 à 1/300 (début du virage à 1H et virage nette à 1H 30min).

Il faut signaler que des dilutions plus importantes ont été testés (Résultats non montrés). Cependant, les temps de virage étaient plus grands (>2H), ce qui est pratiquement et économiquement peu intéressant.

Le rapport E/S optimal est aux environs de 200 CEIP/g d'amidon (100 CEIP/g MS) (pour 2ml d'enzyme au 1/300). Cependant, vu que le virage des couleurs après révélation à l'iodine à 1H30mn n'était pas net, nous avons maintenu un rapport plus grand (celui équivalent à la dilution de 1/240) (250CEIP/g d'amidon, 125CEIP/g MS).

c) Effet de la concentration du substrat (Catalyse en milieux concentrés):

L'objectif de cette partie est l'étude de l'effet de la concentration du substrat pour le rapport E/S optimal (équivalent à 2ml de la dilution 1/240) (250 CEIP/g d'amidon, 125CEIP/g MS). Deux milieux plus concentrés ont été testés (40g/100ml et 80g/100ml). Les résultats obtenus sont illustrés sur la **Figure 25**.

Nous signalons que les prélèvements étaient très difficiles, car le milieu est plus concentré en substrat. La pomme de terre après traitement thermique devient plus onctueuse et le volume du milieu est réduit ce qui a interféré l'agitation, et donc le contact enzyme-substrat et par conséquent l'efficacité de la liquéfaction : le temps de virage de la couleur après révélation à l'iodine a été prolongé par rapport au milieu dilué (20g/100ml) traité avec le même rapport E/S. Il est de 2H 30min pour 40g/100ml et de 3H pour 80g/100ml. Une deuxième série (avec les deux teneurs) a été donc testée après addition de 40ml de tampon pH6 pour les deux teneurs testées : quantité suffisante pour fluidiser un peu le milieu en récupérant le volume perdu lors de l'autoclavage. Les résultats obtenus sont montrés sur **la figure 25 (suite).** Le temps de virage de la couleur est plus réduit. Il est estimé à 1H30min pour 40g/100ml et de 2H pour 80g/100ml.

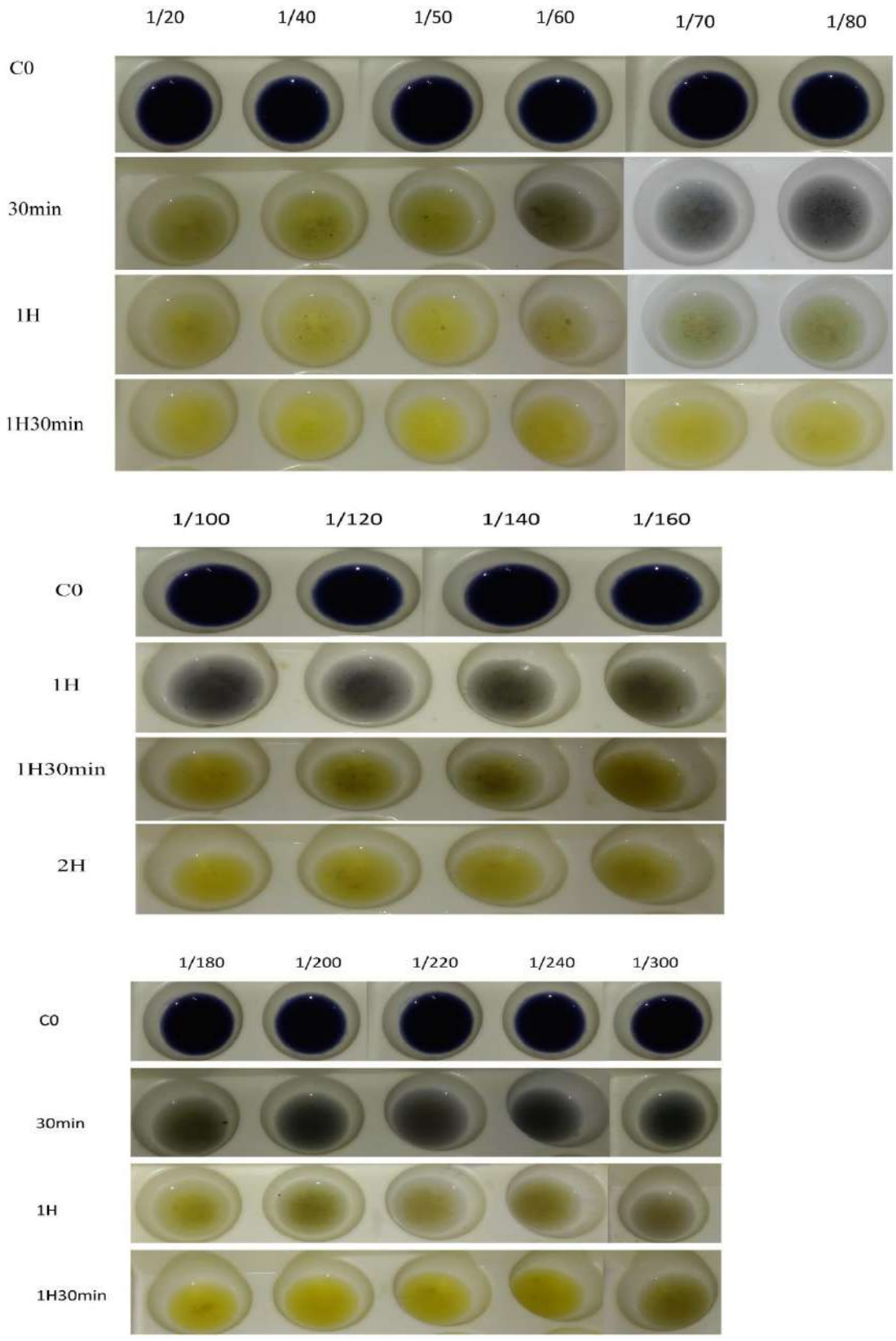


Figure24 : Effet de Concentration de l'enzyme sur la liquéfaction de broyât de pomme de terre dispersés à 130°C (optimisation du rapport E/S)

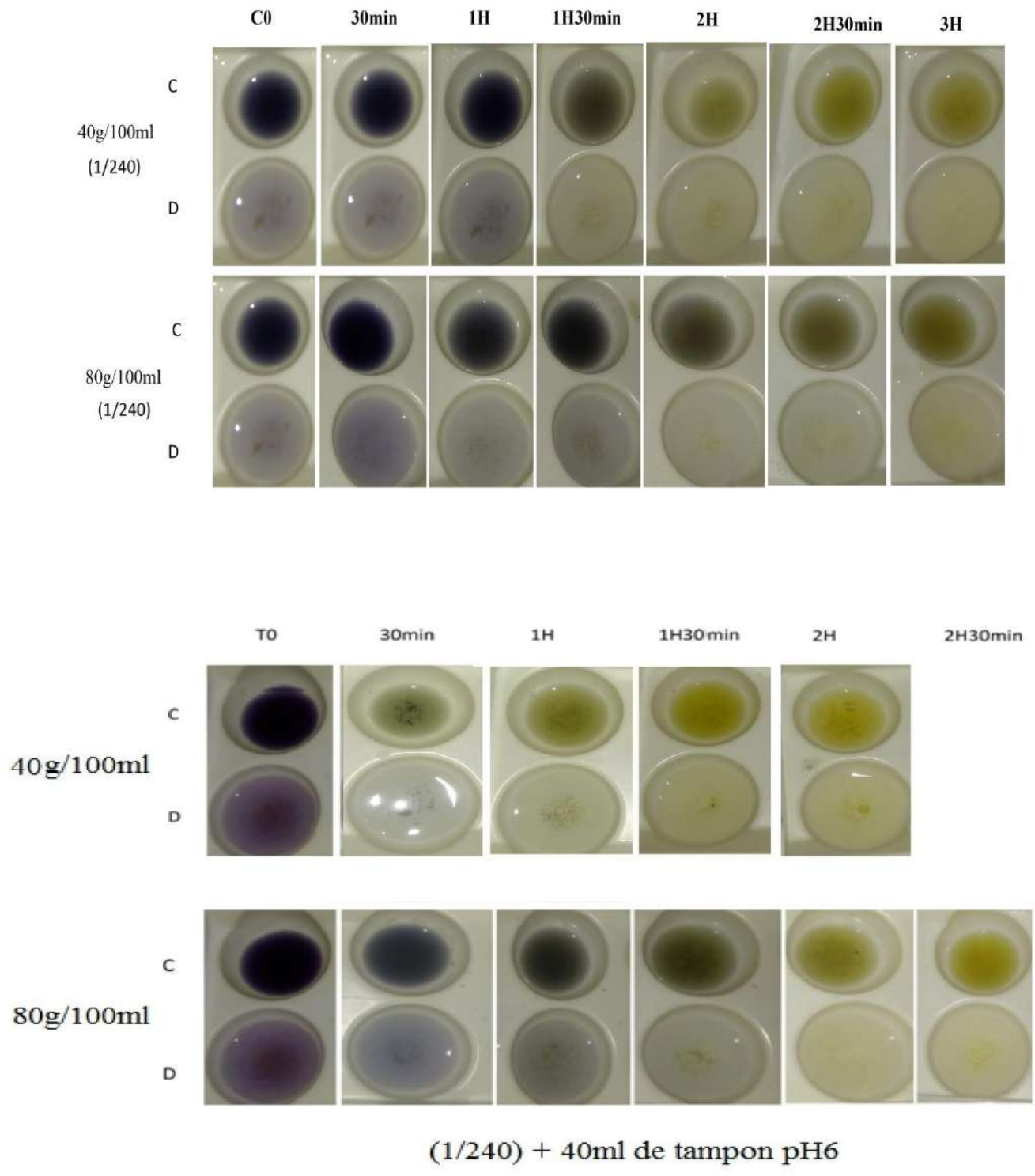


Figure 25 : Effet de concentration de substrat sur la liquéfaction de broyât de pomme de terre dispersés à 130°C avec un rapport E/S=250CEIP/g d'amidon= 125CEIP/g MS (Catalyse en milieux concentrés).

Conclusion : Un rapport de E/S=250 CEIP/g d'amidon, 125CEIP/g MS est efficace même en concentrant le milieu. Cependant, afin de réduire le temps de l'hydrolyse, il faut s'assurer que le milieu est fluide : il faut donc régénérer la quantité d'eau perdue lors de la dispersion.

d) Effet de la température :

L'efficacité du traitement thermique du substrat a été prouvé précédemment : nous avons commencé par à une température supérieur à 100°C (130°C sous pression) pour être sure que cette dernière est suffisante pour une bonne dispersion de notre substrat quelle que soit sa teneur ou sa charge dans le milieu.

L'objectif de cette partie est de fixer la température de dispersion optimale adéquate avec la charge du milieu. Pour cela, nous avons réalisé des traitements thermiques de broyâts de pomme de terre à différentes charges (20g, 40 g et 80g / 100ml) à deux températures inférieures à 130°C (100C° et 115C°) **(Figure 26)**. Ces résultats ont été comparés avec ceux précédemment obtenu à 130°C pour les mêmes teneurs **(Figures 24, 25, 27, 28, 29)**.

Il apparait nettement que la température de dispersion dépend de la charge du milieu :

- A faible charge (20 g/100ml), une température de dispersion de 100°C est suffisante pour avoir un bon résultat de l'hydrolyse (un virage de la couleur à 30min), alors que des températures supérieures sont plutôt fortes et agressives : nous avons une liquéfaction, mais le temps de virage de la couleur est un peu plus prolongé et moins nette (1H30min).
- A charge moyenne (40g/100ml), toutes les températures de dispersions sont valables. Le temps de virage de la couleur est approximativement entre 1H et 1H 30min; cependant, il est plus net à 130°C.
- A fortes charges (80g/100ml), la dispersion à 130°C est meilleure, le virage net est obtenu à partir de 2H. A 100°C et 115°C, nous avons une dégradation de la couleur après révélation à l'iodine mais le virage au jaune net n'est pas obtenu au bout de 3H.

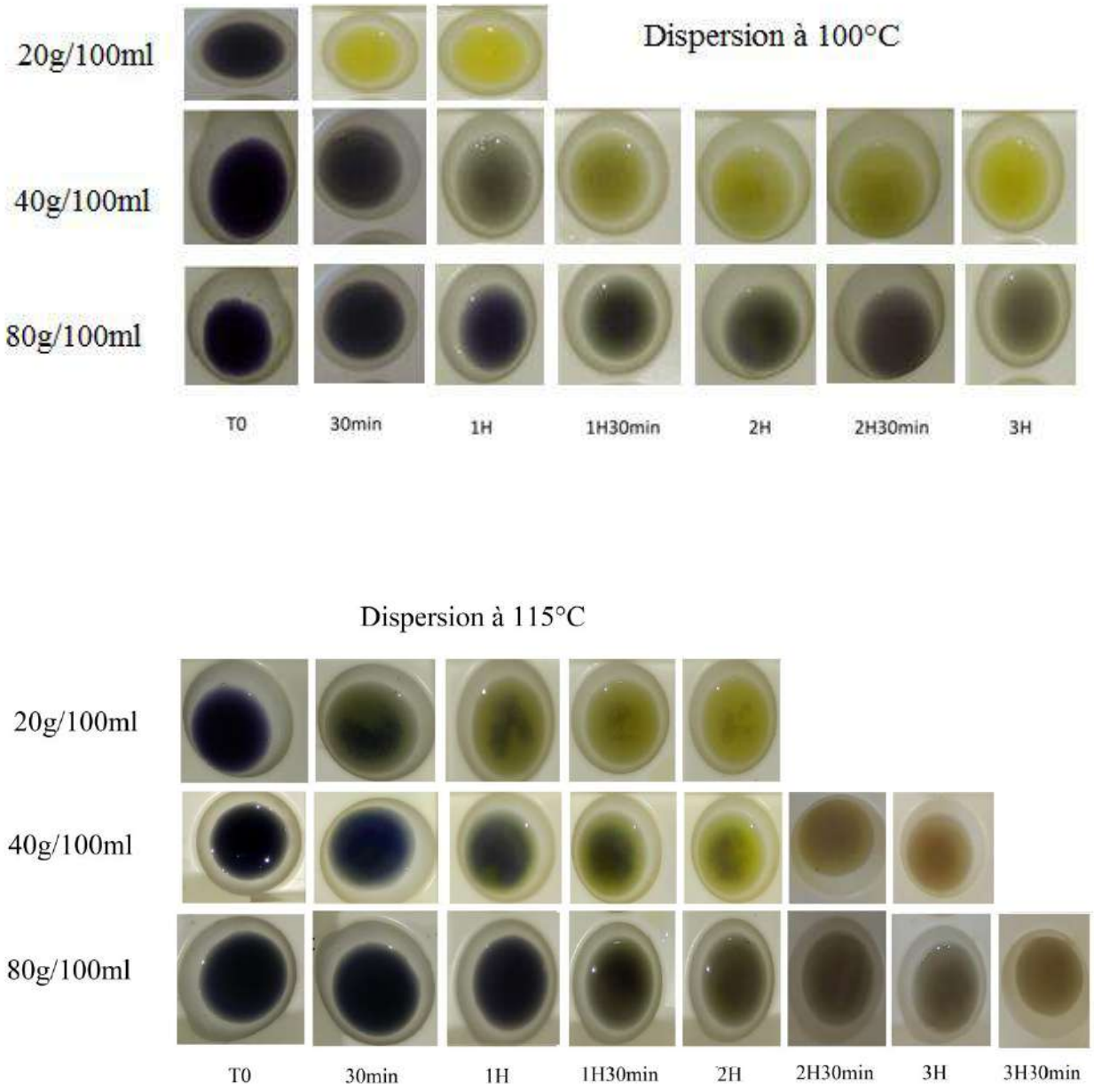


Figure 26 : Effet de température de dispersion sur la liquéfaction à différentes charges : Dispersion à 100°C et 115°C.

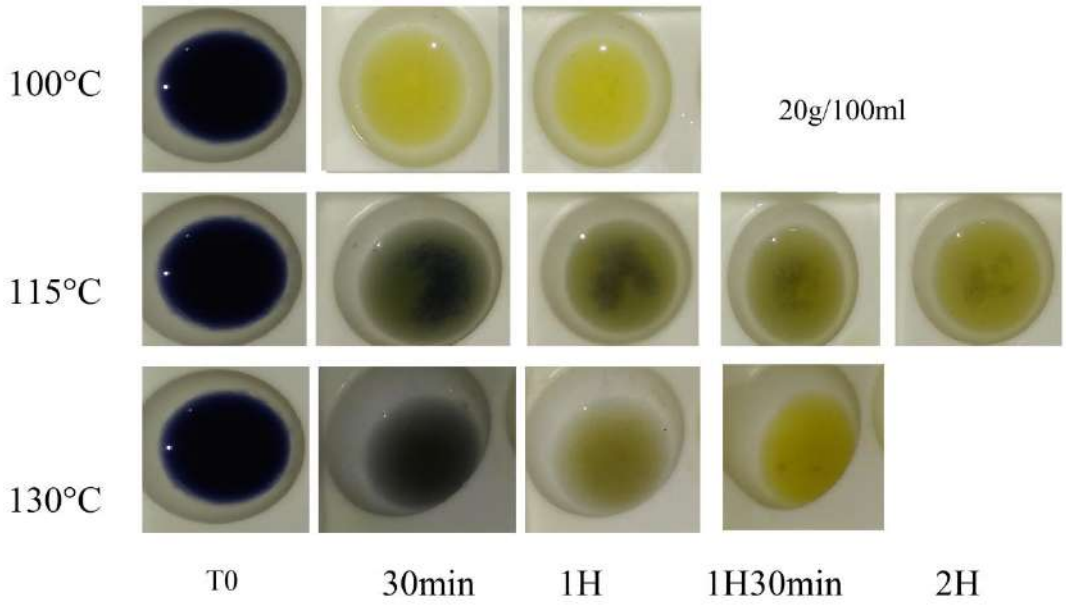


Figure 27 : Effet de la température sur la liquéfaction à 20g/100ml.

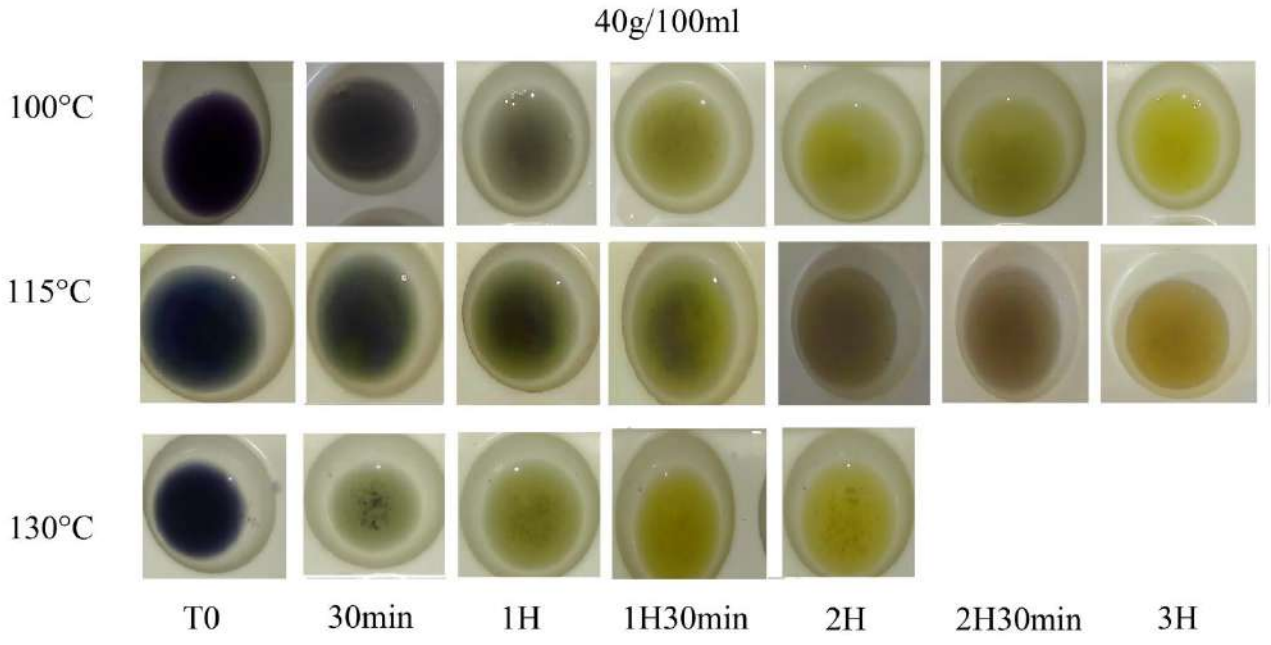


Figure 28 : Effet de la température sur la liquéfaction à 40g/100ml.

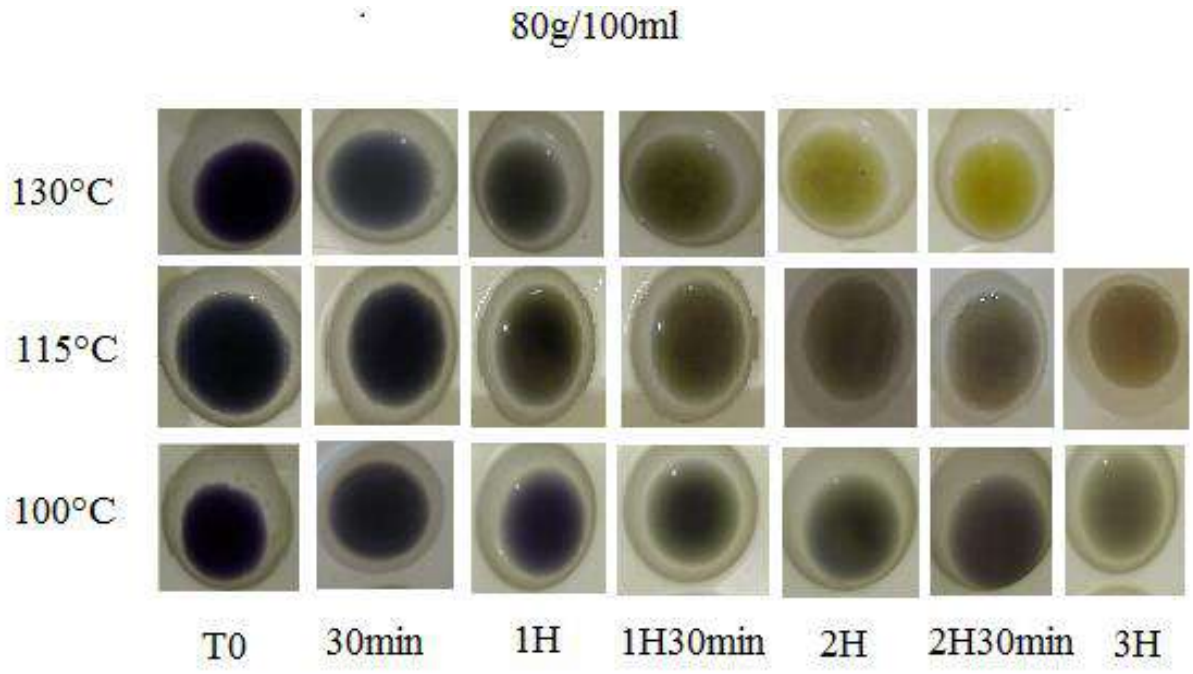


Figure 29 : Effet de la température sur la liquéfaction à 80g/100ml.

I.3.3 Attaque enzymatique de l'amidon de pomme de terre traité thermiquement puis conservé par séchage (Fécule de pomme de terre):

a) Faisabilité :

Dans ce partie nous testons la liquéfaction de la fécule de pomme de terre (cuite à 100°C, broyée puis séchée à 100°C) en utilisant un rapport E/S=6000 CEIP/g d'amidon équivalent à 3000CEIP/g de MS). Les résultats obtenus sont représentés sur la **figure 30**. Le virage de la couleur après révélation à l'iodine commence à partir de 2H de traitement enzymatique, il est net à 3H30min. Il est plus important par rapport à celui du broyât de pomme de terre dispersé à 130°C et traité à la même charge et avec le même rapport E/S (30min) **(Figure 23)**. Ceci est du au fait que les deux substrats sont traités par deux méthodes de traitement thermique différentes

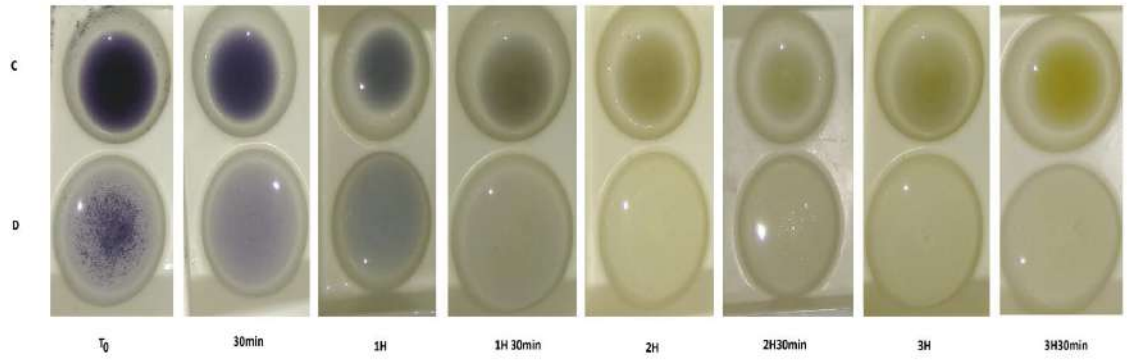


Figure 30: Liquéfaction de la fécule de pomme de terre sèche (3g/100ml, E/S=6000 CEIP/g d'amidon équivalent à 3000CEIP/g de MS).

b) Effet de la concentration de l'enzyme : Optimisation du rapport E/S :

Dans cette partie, nous avons varié la quantité de l'enzyme dans le milieu réactionnel. Le rapport E/S varie donc de 6000CEIP/g d'amidon (3000 CEIP/ gMS) (pour 2ml d'enzyme au 1/10) à 1200 CEIP/g d'amidon (600CEIP/ gMS) (pour 2ml d'enzyme au 1/50). Les résultats **(Figure 31)** montrent que le temps de virage de la couleur après révélation à l'iodine varie en fonction de la quantité de l'enzyme. Il est de :

- ✓ 2H pour les dilutions 1/10 à 1/20 ;
- ✓ 5H30 min pour les dilutions : 1/40, 1/50.

Nous avons donc retenu les deux rapports suivants comme rapports optimaux pour la suite de notre travail :

- 6000 CEIP/g d'amidon (3000 CEIP/g MS) (correspondant à 2ml de la dilution 1/10 par 100ml)
- 3000 CEIP/g d'amidon (1500 CEIP/g MS) (correspondant à 2ml de la dilution 1/20 par 100ml).

c)Effet de la concentration du substrat (catalyse en milieux concentrés).

L'objectif de cette partie est l'étude de l'effet de la concentration du substrat pour les deux rapports optimaux trouvés précédemment. Deux milieu plus concentrés ont été testés (6g/100ml et 12g/100ml). Les résultats obtenus sont illustrés sur les **Figures 32** et **33**.

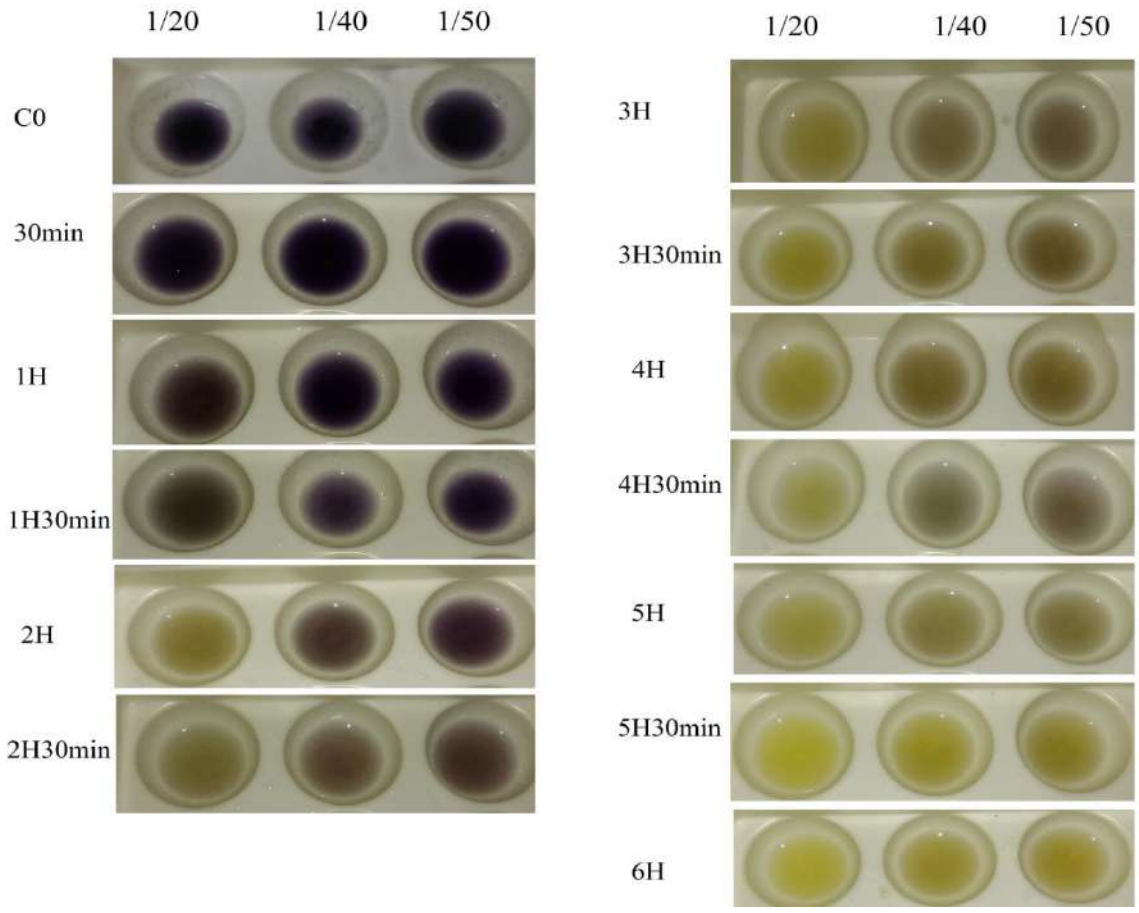


Figure 31 : Effet de Concentration de l'enzyme sur la liquéfaction fécule sèche (optimisation du rapport E/S)

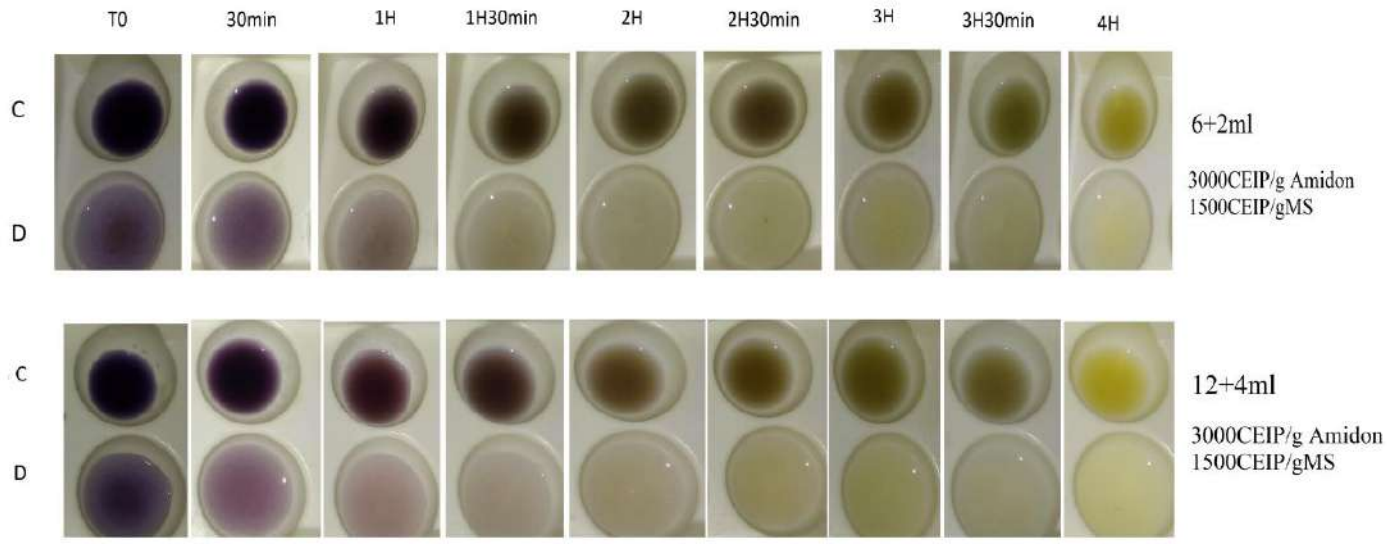


Figure 32 : Effet de concentration de substrat sur la liquéfaction de fécule sèche avec un rapport E/S=3000CEIP/g d'amidon= 1500CEIP/g MS (catalyse en milieux concentrés)

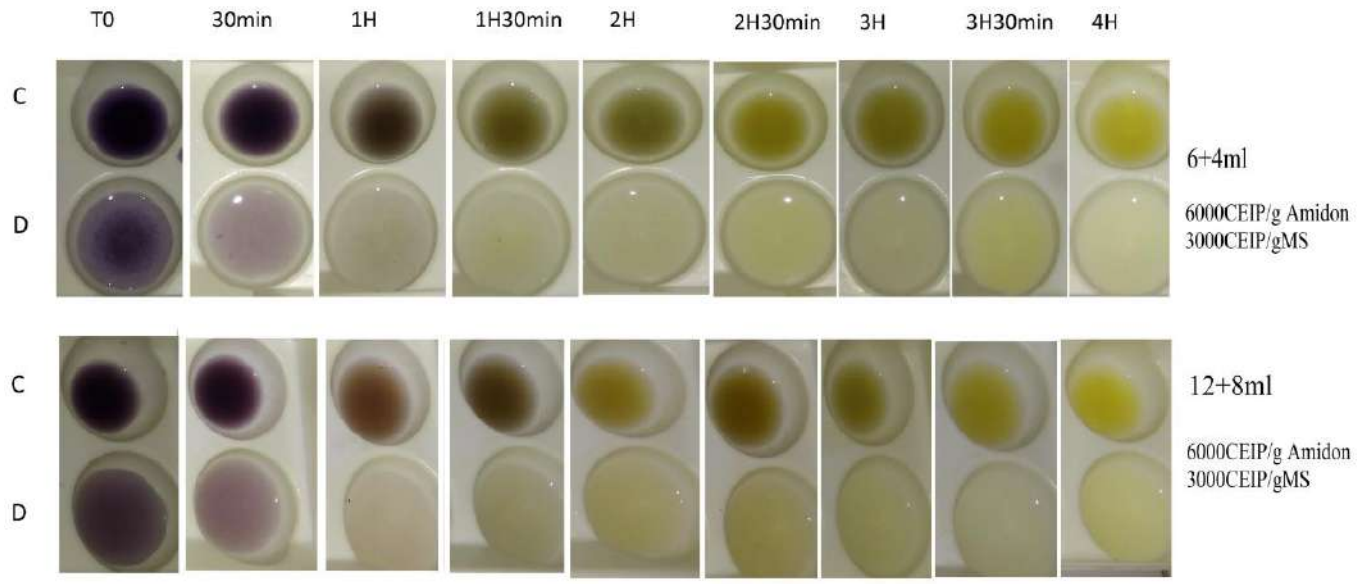


Figure 33 : Effet de concentration de substrat sur la liquéfaction de fécule sèche avec un rapport E/S=6000CEIP/g d'amidon= 3000CEIP/g MS (catalyse en milieu concentré)

Pour le rapport E/S=3000CEIP/g d'amidon (1500CEIP/g MS), le virage de la couleur après révélation à l'iodine a été prolongé de 2H à 4H en passant du milieu faiblement chargé (3g/100ml) aux deux milieux chargés (6g/100ml et 12/100ml).

Pour le rapport E/S=6000CEIP/g d'amidon (3000CEIP/g MS), les temps de virage de la couleur après révélation à l'iodine sont équivalents quelque soit la charge du milieu (entre 2H et 2H30min).

Vu que la quantité d'enzyme utilisée dans le cas de la fécule sèche est importante (par rapport à la quantité utilisée pour les broyats dispersés à 130°C), nous estimons que les deux rapports sont intéressants :

- Pour éviter le gaspillage de l'enzyme, un rapport E/S=3000CEIP/ g d'amidon (1500CEIP/g MS) est préférable ; seulement, il faut prolonger le temps de l'hydrolyse.
- Si le facteur temps est plus important, il faut donc travailler avec un rapport plus grand E/S=6000CEIP/g d'amidon (3000CEIP/g MS). Ceci permet de réduire la durée de l'hydrolyse de moitié.

I.4 Saccharification:

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 faux donc utilisé 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.

Dans cette partie, nous avons réalisé la saccharification de broyâts chargés de pomme de terre (40g/100ml, 80g/100ml) dispersés aux différentes températures et liquéfiés avec un rapport E/S=250CEIP/g d'amidon (125 CEIP/g MS).

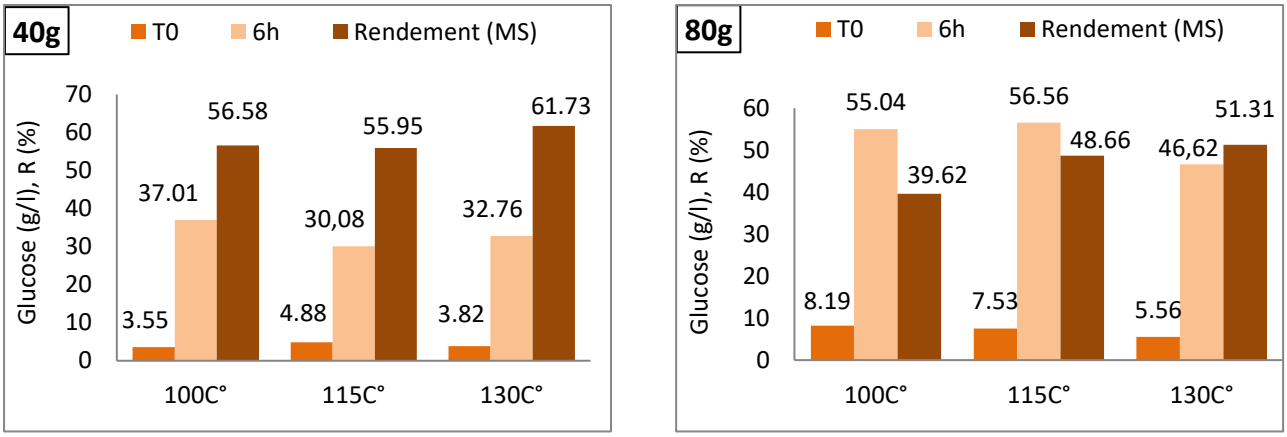


Figure 34 : Saccharification de broyâts chargés (40g/100ml, 80g/100ml) dispersés aux différentes températures et liquéfiés avec un rapport E/S=250CEIP/g d'amidon (125 CEIP/g MS) : taux de glucose à T0, Tf=6h et rendement.

A partir des résultats **(Figure 34),** nous remarquons qu'au bout 6 heures de saccharification sous agitation à pH=4 à 50 °C, nous avons une libération importante de glucose dans le milieu alors que le taux de glucose aux T0 était bas pour toutes les charges.

Pour les charges moyennes de 40g/100ml (où la liquéfaction était complète pour toutes les températures de dispersion), le taux de glucose à la fin de saccharification atteint un maximum donnant des rendements de saccharification équivalents quelque soit la température de traitement. Ces rendements sont aux environs de **50-60%** par rapports aux matières sèches ce qui est équivalent à **100%-120%** par rapport à la quantité d'amidon.

Il faut rappeler que la liquéfaction en milieu plus chargé (80g/100ml) était favorisée par la dispersion de l'amidon sous hautes températures. Le rendement de saccharification est dans ce cas de **51%** par rapport à la matière sèche (**100%** par rapport à l'amidon). Elle était partielle pour les broyats dispersés à 100°C et 115°C. Le rendement saccharification dans ces cas de **40** et **48%** par

rapport à la matière sèche, ce qui correspond à **80%** et **96%** par rapport à l'amidon: taux qui ne sont pas loins du rendement obtenu pour la charge dispersée à 130°C où la liquéfaction était complète.

Il faut rappeler que la quantité de Glucoamylase utilisée était dix fois en excès par rapport à la quantité recommandée par le fournisseur de l'enzyme et optimisée par **Abdesslam. I et Bennia. N, 2016** (0,64g/l pour une quantité d'amidon liquéfié de 30g/l). En conclusion, une saccharification exercée en excès de glucoamylase corrige une mauvaise liquéfaction due à une dispersion à une température inadéquate à la charge de la suspension. Ce travail peut être complété ultérieurement, par l'optimisation de la quantité de glucoamylase nécessaire à avoir un rendement max quelque soit la température de dispersion. Cela pourrait nous éviter les traitements aux fortes températures pour les suspensions de pomme de terre chargées.

La saccharification de la fécule sèche en milieux chargés (6g/100ml et 12g/100ml) liquéfiés aux deux rapports E/S optimaux (6000CEIP/g d'amidon=3000CEIP/g MS ; 3000 CEIP/g d'amidon=1500 CEIP/g MS) donne les résultats représentés sur la **figure 35**.

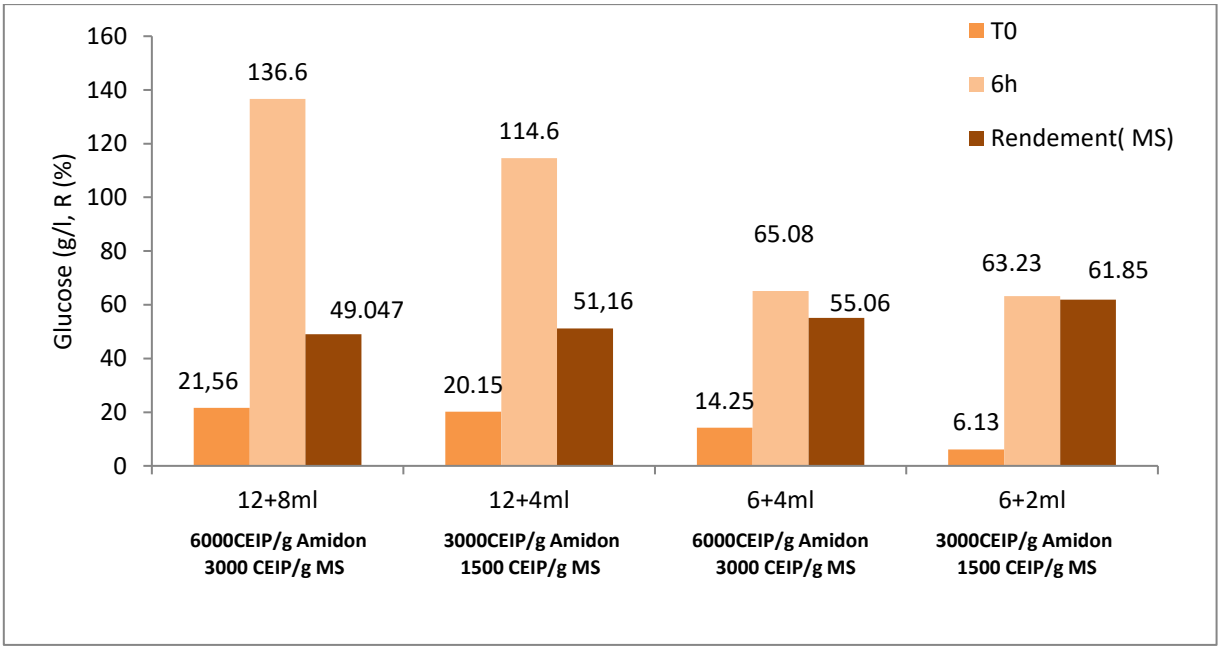


Figure 35 : Saccharification de fécules sèches (6g/100ml, 12g/100ml) liquéfiées avec les rapports E/S=6000CEIP/g d'amidon (3000 CEIP/g MS) et E/S=3000CEIP/g d'amidon (1500 CEIP/g MS): taux de glucose à T0, Tf = 6h et rendement.

Les concentrations finales en glucose sont importantes et maximales et dépondent de la teneur en pomme de terre utilisée. Les rendements obtenus pour les mêmes charges sont équivalents quelque soit le rapport E/S utilisé lors de la liquéfaction : ils varient entre **49%** et **61%** par rapport à la matière sèche attestant une hydrolyse totale de l'amidon présent dans le milieu (**100%**). Ceci nous

confirme une fois de plus que les deux rapports choisis son techniquement adéquat à l'hydrolyse de notre substrat. Le choix final dépond donc des impératives économiques et de la productivité exigée par le producteur.

I.5 Fermentation:

Tous les produits de saccharification ont été dilués et utilisés pour produire de l'éthanol par fermentation alcoolique en utilisant la levure de bière. Les résultats obtenus sont représentés sur la **figure 36** pour les broyâts dispersés, liquéfiés et saccharifiés et la **figure 37** pour les fécules liquéfiées et saccharifiées.

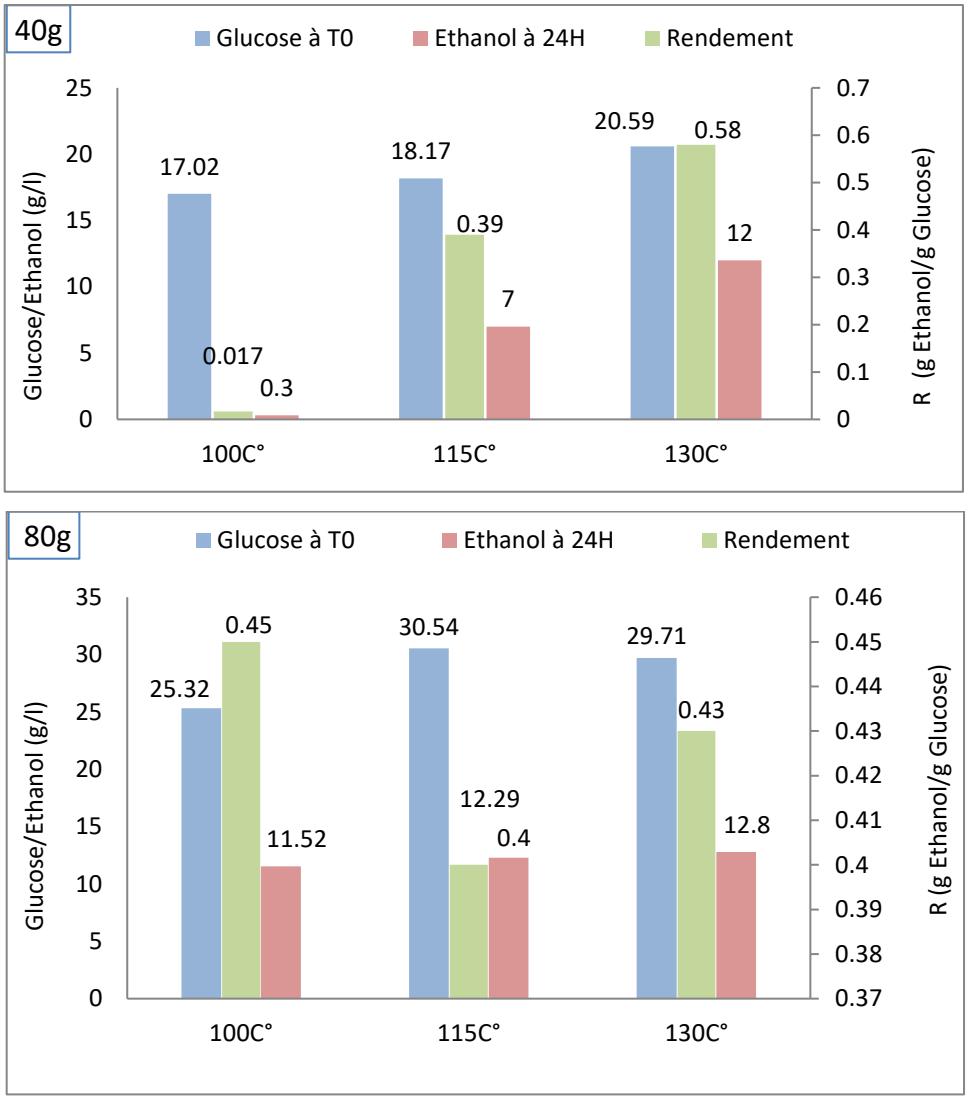


Figure 36 : Résultats de la fermentation pour les broyâts dispersés, liquéfiés et saccharifiés.

En considérant les mêmes charges, les fermentations ont débuté par les mêmes niveaux de concentrations en glucose, car les liquéfactions ont aboutit à des concentrations finales voisines. L'éthanol atteint sa concentration maximale au bout de 24H pour toutes les charges. Cette dernière dépend de la teneur traitée (maximum **12 g/l** pour 80g/100ml). Il est produit avec des rendements très appréciables (**0,40** à **0,58**g/g de glucose) proches du rendement théorique (**0,55**g/g de glucose) quelque soit la teneur en pomme de terre traitée et quelque soit la température de dispersion appliquée, puisque la phase de saccharification était menée avec des rendements maximum. Le milieu était donc favorable à la production du bioéthanol sans supplémentations (extrait de levure, source d'azote….), car ces dernières sont apportées par la pomme de terre-elle-même. Nous notons qu'une seule fermentation a donné un rendement très bas. Une contamination est une cause très probable dans ce cas.

Bien que les concentrations initiales en glucose à T0 fermentation des fécules étaient comparables à ceux des broyats de pommes de terre, la production d'éthanol atteint son maximum à 36h (et pas à 24H). Ceci est peut être lié à la nature nutritive de la pomme de terre cuite et séchée, car elle peut être plus pauvre en facteurs de croissance par rapport à celle dispersée **(Figure 37)**.

Puisque toutes les charges ont aboutis à une saccharification totale, la fermentation est donc indépendante du rapport E/S : le taux et le rendement de production d'éthanol dépondent uniquement de la charge liquéfiée et saccharifiée et de sa richesse en facteurs favorisant cette fermentation:

- Lorsque le milieu de fermentation est issu de la saccharification des fécules à 12g/100ml, les concentrations initiales en glucose sont importantes (entre **35** et **40g/l**), donnant un taux d'éthanol de **17g/l** avec un rendement appréciable (entre **0,45** et **0,48**g d'éthanol/g de glucose).
- Lorsque le milieu de fermentation est issu de la saccharification des fécules à 6g/100ml, les concentrations initiales en glucose sont moins importantes (≈**16g/l**), donnant un taux d'éthanol de **6g/l** avec un rendement **0,36**g d'éthanol/g de glucose pour la fermentation la plus réussite. Ce ci est peut être du au faite que cette charge est insuffisante en facteurs de croissance. Le rendement de la 2ème fermentation est bas, **0,19** g d'éthanol/g de glucose, probablement à cause d'une contamination.

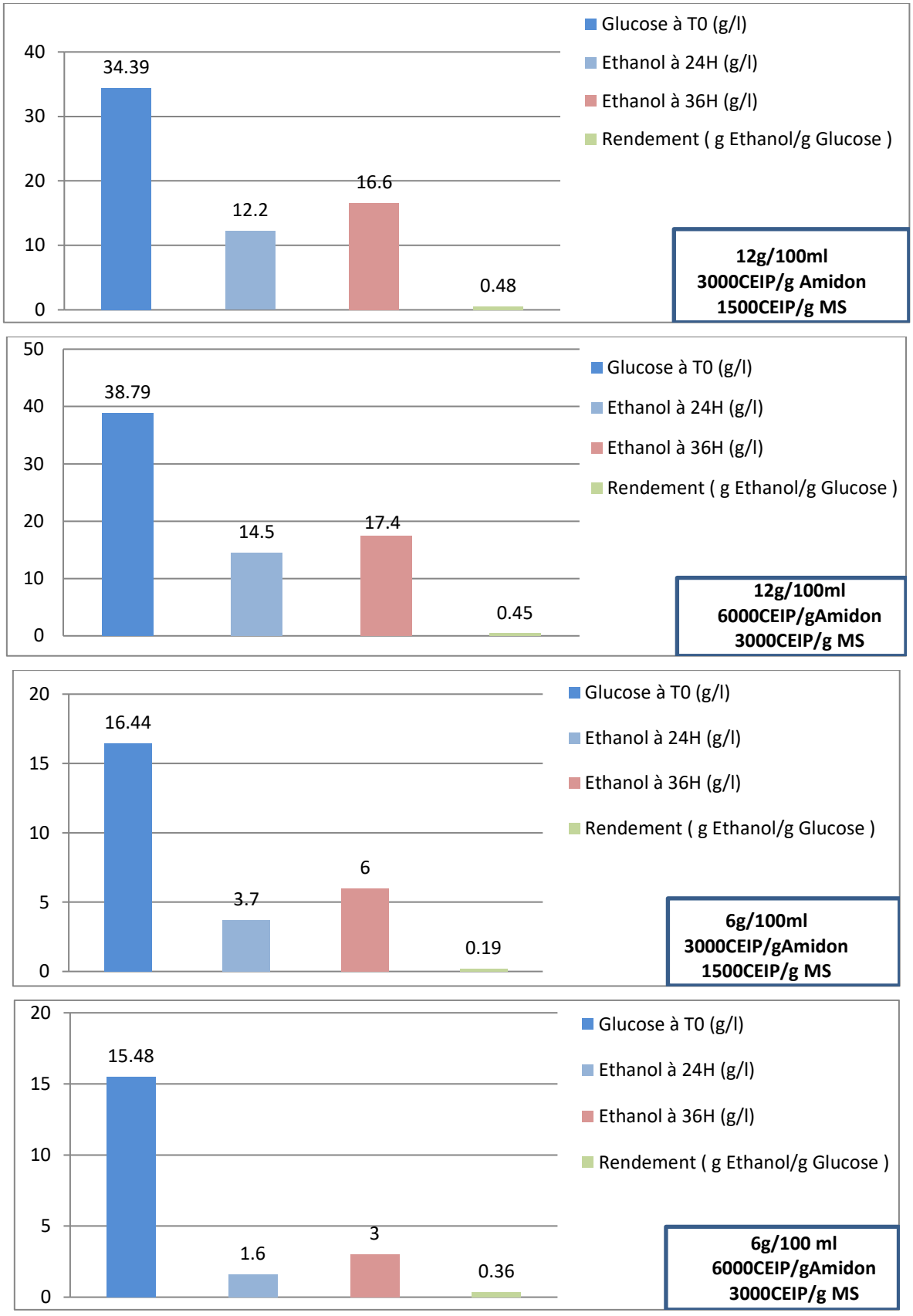


Figure 37 : Résultats de la fermentation de milieux issus de la liquéfaction et la saccharification des fécules sèches.

I.6 Analyse de l'éthanol récupéré :

Apres distillation, le bioéthanol est révélé. D'après la **Figure 38**, 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.

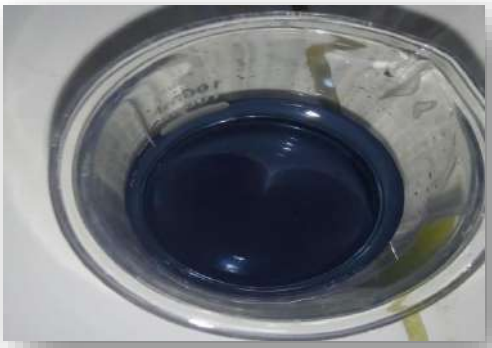


Figure 38 : Résultat de la révélation d'un distillat au bichromate de potassium.

L'analyse du spectre de notre distillat (**Figure 39**) (avec comparaison par rapport à celui d'une molécule de référence : Ethanol 97%, Spectre non présenté), nous montre qu'il s'agit bien du même produit (Ethanol) puisque nous avons obtenu des pics aux même bandes dans les deux spectres, on parle de :

- La bande d'allongement caractéristique de la fonction OH située à 3417cm^{-1} présente dans les alcools (**O-H libre:** [3700-3500]^{VA} , **O-H lié (liaison H):** bande large à [3500-3100]^{VA}) .
- La bande de déformation caractéristique de la fonction OH à 1396 cm^{-1}, 1334cm^{-1} et 1265 cm^{-1} présente dans les alcools primaires (**O-H (alcool primaire) :**. [1350-1260]^{VD}).
- La bande d'allongement caractéristique de la liaison C-H à 2978cm $^{-1}$. La bande située à 1396cm $^{-1}$ peut être aussi celle de déformation correspondande à la liaison C-H. (**C-H des chaînes aliphatiques et des groupements CH_3:** [3000-2840] ^{VA} et [1450, 1375]^{VD}).
- La bande de la liaison –C-O présente dans les alcools primaire à 1049 cm^{-1} (**C-O des alcools primaires :** [1080-1000] ^{VA}).

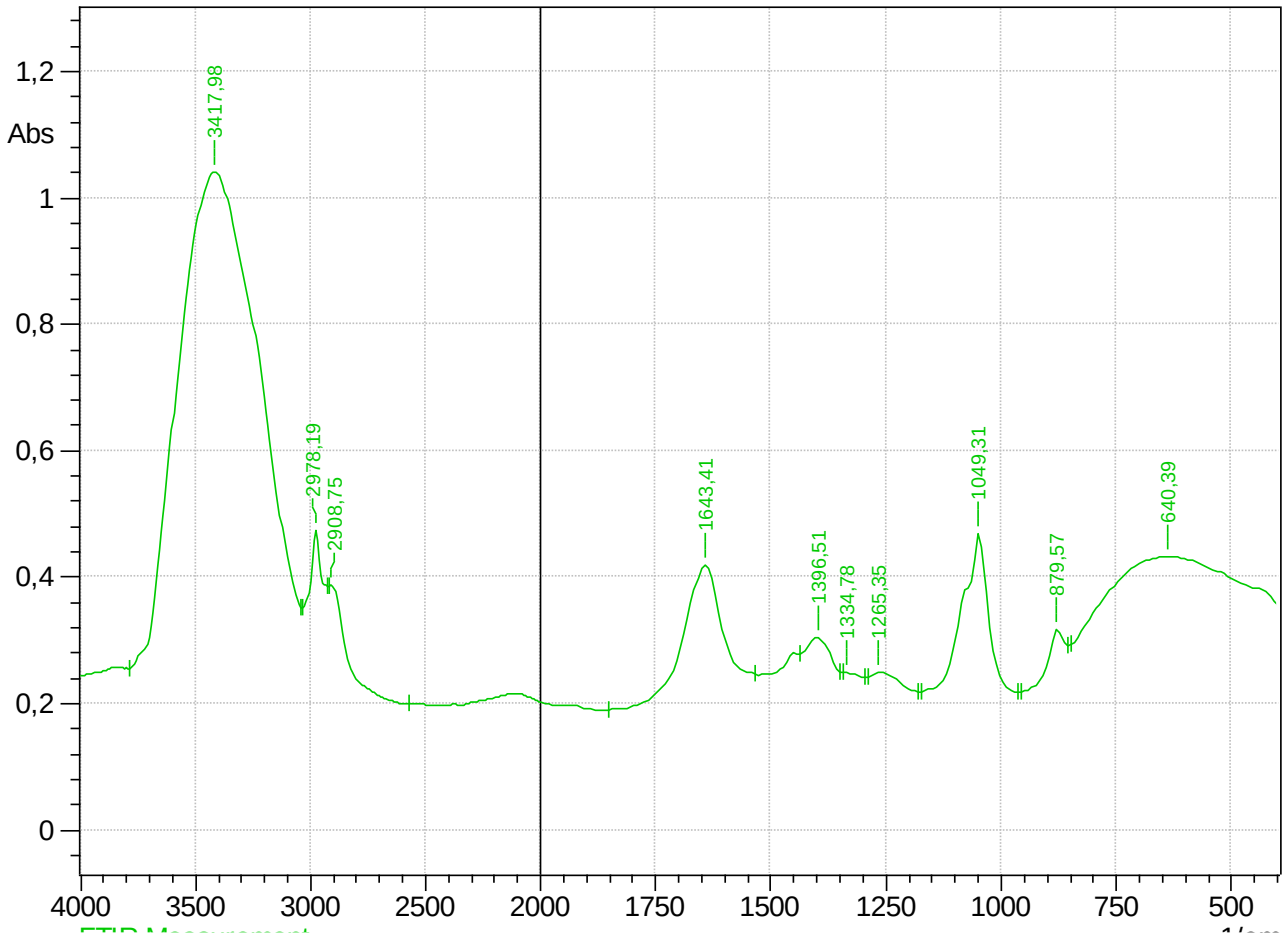


Figure 39 : Spectre infrarouge d'un distillat de Bioéthanol.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Actuellement, la consommation énergétique algérienne dépend à 99 % des hydrocarbures, une ressource conventionnelle qui va s'épuiser dans quelques années. Il faut donc se préparer en développant l'utilisation des énergies renouvelables telles que le bioéthanol.

Le bioéthanol est obtenu à partir de plusieurs sources : betterave, blé, résidus agricoles , et la pomme de terre sur laquelle ce mémoire a été réalisé.

Nous avons commencé notre travail par une caractérisation de la pomme de terre. Il s'agit d'une ressource trés riche en eau (83%). La quantité de matières sèches constitue 17% dont 8,5% représente l'amidon.

L'essai de liquefaction sur la pomme de terre fraiche broyée montre que son amidon résiste à l'hydrolyse enzymatique à cause de son insolubilité. Des essais ont été réalisés dans le but d'améliorer le contact « Enzyme liquéfiante-amidon frais » : ajout de gomme arabique, un prétraitement à la cellulase, changement du type d'alpha-amylase. Cependant, ces tests n'ont pas aboutis à une amélioration significative de l'opération de liquéfaction.

Enfin, nous avons cédé au traitement thermique de l'amidon, bien qu'il n'était pas prioritaire dans notre étude. La dispersion à 130°C avait un effet nettement positif sur la qualité de la liquefaction. 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 équivalent à 125 CEIP/g MS quelque soit sa charge dans le milieu d'hydrolyse (20, 40, 80g/100ml).

L'optimisation du traitement thermique montre bien que les faibles températures (100°C) sont adéquates aux faibles charges (20g/100ml) alors que les fortes températures (130°C) sont efficaces pour les grandes charges (80g/100ml).

Les essais de liquéfaction ont été aussi réalisés sur une autre forme de substrat « Fécules sèches » obtenues par cuisson de pommes de terre à 100°C suivie d'un broyage puis un séchage à 100°C. L'amidon des fécules (à 3g/100ml) est totalement hydrolysé au bout de 2H, dans les conditions optimales suivantes : une température de 55°C, un pH=6 pour deux rapports optimaux : 6000 CEIP/g d'amidon= 3000 CEIP/g MS et 3000 CEIP/g d'amidon=1500 CEIP/g MS. Lorsque la charge est plus importante, le temps d'hydrolyse est identique pour le plus grand rapport E/S (6000 CEIP/g d'amidon= 3000 CEIP/g MS) alors qu'il est prolongé à 4H pour le rapport E/S faible 3000 CEIP/g d'amidon=1500 CEIP/g MS.

La saccharification a été exercée sur des suspensions chargées des deux formes de pomme de terre-les broyâts dispersés aux différentes températures et fécules sèches- liquéfiés dans les conditions optimales. Cette partie a aboutis à des concentrations en glucose maximales et des rendements de degradation maximum (80% et 100% par rapport à l'amidon). Une saccharification exercée en excès de glucoamylase corrige une mauvaise liquéfaction due à une dispersion à une température inadéquate à la charge de la suspension.

En fin, notre Bioéthanol a été produit au bout de 24H à 36H avec des concentrations variables qui dépondent de la teneur ou de la charge traitée et donc du Glucose libéré au cours de la saccharification (maximum 12-17 g/l pour les fortes charges). Le rendement de production est d'une façon générale appréciable (0,40-0,58) g de d'éthanol/g de glucose ; bien les milieux issus de la liquéfaction et la saccharification de la pomme de terre n'ont pas été supplémentés en facteurs de croissance et sources d'azote.

Nos résultats sur la production de bioéthanol à partir de l'amidon de pomme de terre sont satisfaisants et encourageants. Ce travail peut être complété dans le future proche par :

- des essais sur d'autres formes du même substrat (forme directement séchée et broyée),
- Des essais d'amélioration de la liquéfaction du substrat brut en utilisant une source moins coûteuse d'alpha –amylase spcialement plus active sur la forme insoluble de l'amidon.
- l'optimisation de la saccharification : en fixant la quantité de glucoamylase nécessaire à avoir un rendement maximal quelque soit la température de dispersion. Cela pourrait nous éviter les traitements aux fortes températures pour les broyâts de pomme de terre chargés.

Enfin, Nous avons une perspective primordiale c'est d'obtenir l'éthanol à partir de déchets de pomme (épluchures de pomme de terre) issus des restaurants, usines de production des chips et purées. Car, la production à partir des pommes de terre reste en concurrence avec le secteur agricole notamment sur l'utilisation de source destinée à l'alimentation.

Ces dernières années, l'Algérie a connu une progression significative qui a permis non seulement de couvrir aisément les besoins nationaux en pomme de terre mais également de dégager des excédents à exporter, ce qui lui permet d'exploiter cette source énergétique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHQUE ET Annexes

Références bibliographiques

A

Abdesselam Imen , Bennai Nesrine, 2016 : Valorisation des sous produit polysaccharidiques pou la production de bioéthanol .Mémoire de master. Université de Dr Yahia Farés de Médéa.

Agence National Des Déchet 2014 : Caractérisation des déchets ménagers et assimilés dans les zones nord, semi-aride et aride d'Algérie.

Amillastre Emilie, 2012 : Amélioration de la robustesse de souches de levures aux stress technologiques par une stratégie de génie microbiologique. Application à la production industrielle de bioéthanol à partir de matières premières agricoles. Thèse doctorat. Université de Toulouse.

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

B

Benabdallah Fatima Zahra. Bendaoud Malika ,2016 : Contribution à la production d'éthanol à partir des épluchures de pomme de terre.Mémoir de Master. Université Tlemcen

Benaouida Karima, 2008 : Etude de l'alpha amylase de levures isolées d'un écosystème extrême (sol environnement des sources thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Thèse de doctorat .Université de Montouri Constantine.

Bentouba Saïd, 2006 : Contribution de l'énergie éolienne à l'hybridation des centrales électriques des réseaux isolés du Su. Laboratoires de Développement Durable et d'Informatique, LDDI Université Africaine, Adrar, Algérie

Berrached Lyes ,2011 : Etude Prospective de la Demande d'Energie Finale pour l'Algérie a l'horizon 2030. Mémoire du diplôme Magister. Université Abderrahmane MIRA de Bejaïa.

Bottle R.T., Gilbert G.A., Greewood C.I et SAAD K.N., 953: The degradation of potato amylose in neutral and alkali solution. Chem. And Ind. 541-542

Boufares Khaled ,2012 : Comportement de trois variétés de pommes de terre (Spunta, Désirée et Chubaek) entre deux milieux de culture substrat et hydroponique.Mémoir de magister .Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen.

Bounoua Fouad, 2017 : Production de bioéthanol à partir des déchets de l'industrie de transformation de pomme de terre. Thèse de master. Université M'Hamed Bougara Boumerdés

Bouras Hanene. Bourega Asma. Khineche Saida, 2005 : Etudes Supérieures en Biologie inflence des facteurs physiologique et nutritionels sur la production de la biomasse microbienne(leveur boulangére) .Diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie. Université de Kasdi Merbah de Ourgla.

C

Camonis J.H., 1990 : Modulation de l'activité des protéines RAS et régulation du cycle de division cellulaire de la levure *Saccharomyces cerevisiae***.** Mémoire doctorat. Paris, 196 p

CDER ,2011 : Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique.www.cder.dz.

D

Delaplace Pierre, 2007 : Caractérisation physiologique et biochimique du processus de vieillissement du tubercule de pomme de terre (Solanum tuberosum L).Université de GEBLOUX.

Deshmuk Minal ,Deshpande.R.S,2010 : biofuel Frome cellulosic Agricultiral waste Issn 0975-6442 volume 2,number 2 .pp (197-217)

Dien.B.S,.Cotta M.A , Jeffries T.W, 2003: Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status,Appl. Microbiol. Biotechnol., 63, 258-266 (2003).

Département de l'Agriculture des États-Unis sur les nutriment,2008 : Base de données

Dupin .Henri, Cup Jean-Louis, Malewiak Marie-Irène et al, 1992 : Amidon. Alimentation et nutrition humaine. PARIS p.127-135 BOTTLE R.T., GL1,BER'I' G.A., CKEENWOOI) C.T. et SAAD K.N., 1953. The degradation of potatn amylose in neutral and alkali solution. Chem. and Ind. 541-542

F

FAO ,2008 : rapport 1,Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, l'année internationale de la pomme de terre, ,nutrition ,et diététique

FAO,2008 :rapport 2, nutrient composition of the potato interesting varieties from human nutrition perspective.

Fenouche Ibtissem, 2017 : Production de bioéthanol à partir de résidus d'agriculture .Mémoire de master. Université Badji Mokhtar de Annaba. .

Foster J.F, 1965: Physical properties of amylose and amylopectine in solution in "Starch : Chemistry and echnolo,Vol 1, ch.15, 349-389, ed. R.L. WHISTLER and E.F. PASCHALL, Academic Press, New-York.

Fujita,Y., Ito, J., Ueda, M. et Fukuda, H. (2003). :Synergistic saccharification, and direct fermentation to ethanol, of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain Co displaying three types of cellulolytic enzyme. Appl Environ Microbiol. 70: 1207–1212.

H

Horton Moran, Ochs Rawn , Scrimgeour, 1994: *Principes de Biochimie.* Ed.DeBoeck Universités

I

INRS: institut national de la recherche et de la santé, 2007.

K

Kara Ali Mounira., 2014 : Isolement et caractérisation de souches levurienne des milieux arides productrices de l'éthanol sur différents substrats. Thèse de doctorat, Université Constantine1.

Kechkar.M et Aziza .M, 2012 M. Kechkar * et M. Aziza 2012 : Le bioéthanol. Division bioénergie et environnement centre de développement des énergies renouvelable .CDER. .Revue sienr'12Ghardia. p276 – 279.

.

L

Larpent J. P., Gourgoud M., 1985 : Elément de microbiologie. Ed.Herman. Paris, 464p.

Leveque.E, Haye.B, Belarbi.A, 2000 : *L'amidon et ses dérivés, applications industrielles,* Collection Bio Campus, Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, 2000.P 14.Université de Toulouse. France ,177pages.

M

MACHELL, G. et RICHARDS C.N., 1958: The alkaline degradation of polysaccharides. Part 3. Action of sodium hydroxide on amylose. J. Chem. Soc., 1199.

MADR, 2018 : Ministère de l'Agriculture de Développement Rural

Ministère Algérien de l'Energie et des Mines, 2007 : guide des énergies renouvelable en Algérie .Edition 2007.Direction des énergies nouvelle et renouvelable.

Multon J.L ,1992 : Le sucre, les sucres, les édulcorants et les glucides de charge dans les IAA, Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Edition Tec & doc.p 286-287

N

Nayouf. M, Loisel C, Doublier.J.L, 2003: Effect of thermomechanical treatment on the rheological properties of crosslinked waxy maize strach.J.FOOD Eng.59, 209-219

Noui. Y, 2001. Optimisation de la production de la biomasse Saccharomyces cerevisiae cultivée sur extrait de datte. Mémoire d'ingénieur institut d'agronomie, Batna.

.

O

Ogier J.C, Ballerini. D, Leygue J.P, Rigal.L et Pourquié.J ,1999 : Production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. Revue de l'IFP, Vol. 54 No. 1, pp. 67-94.

Ohta, K., Akimoto, H., Matsuda, S., Toshimitsu, D. et Nakamura, T, 1998. : Molecular cloning and sequence analysis of two endoinulinase genes from Aspergillus Niger. Biosci Biotechnology Biochem. 62:1731–1738.

Ohta, K., Hamada, S. et Nakamura, T. (1993): Production of high concentrations of ethanol From inulin by simultaneous saccharification and fermentation using Aspergillus Niger and Saccharomyces cerevisiae. Appl Envtl Microbiol. 59: (3)729-733.

R

Richonn 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.

Rousselle P., Rousselle B., Ellisseche D ., 1992 .L a pomme de terre in Amélioration des espèces végétales cultivées .Gallais A, Bammerot H .1992 La pomme de terre, INRA Paris.

Rousselle P., Robert Y., Crosnier J C., 1996. La pomme de terre – Production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. 1 éd. Paris : INRA Editions. P278.

S

Sadi Meriem ,2012 : Le bioéthanol : une véritable alternative pour une énergie propre .Variation alternative pour une énerrgie propre division bioénergie et environnement .CDER. Revue n°25 p1-5

Sadi Mohammed el amine et Hamlat Zohra, 2014 :L'impact Des Energies Renouvelables Sur Le Réseau Electrique Ouest Algérien 220 KV: mémoire de fin d'étude master .Université Dr. Tahar Moulay de Saida.

Salhi Abdelhak, Bouchher Saisia, 2015: Production de bioéthanol par Fermentation alcoolique. Mémoire de master .Université Dr Yahia Fares De Médéa.

Staron T., 1977 : Les protéines non conventionelles pour l'alimentation humaine dans la communité économique Europienne .ed. Apria, Paris. 559 P

T

Tortora G.J., Anagnostakos, N.P., 1987 : Principes d'anatomie et de physiologie. Ed. INC, 5 ème edition, pp 688-693.

Thived.P, Mercier christiane, Guilbot. A, 1995:Dosage de l'amidon dans un milieu complexe. Annlesde biologie animale, biochimie, biophysique,1965,5(4),pp513-526

W

Whistler R.L, 1965: Fractionation of starch. In : "Starch : Chemistry and technology",ed. by R.L. Whistler and E.F. Paschal ; Vol.1. p 331-347. Academic Press. New-York.

Whittington .T, 2003: Ethanol: International Overview of Production and Policies Department of Agriculture andFood, Government of Western Australia

Site 01: ww.educonline.net

Site 02: http://.info/index.php www.petitpanda?module=pdt&id=214)

Site 03: *Source : http://www3.sympatico.ca/biologie534/objectif10.htm*

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 10 ml d'eau distillée, bouillir en mélangeant.

-Jeter ensuit 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 Nm Vm=Nf Vf

C) La solution de stockage (0.1N) :

-Dissoudre 3.17g d'iodine(I_2) 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) 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 6.40g d'acétate de trihydride de sodium $C_2H_3NaO_2$ avec 0.17ml d'Acide acérique $C_2H_4O_2$ dans une fiole de 500 ml.

–Ajuster le volume à 500ml 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.

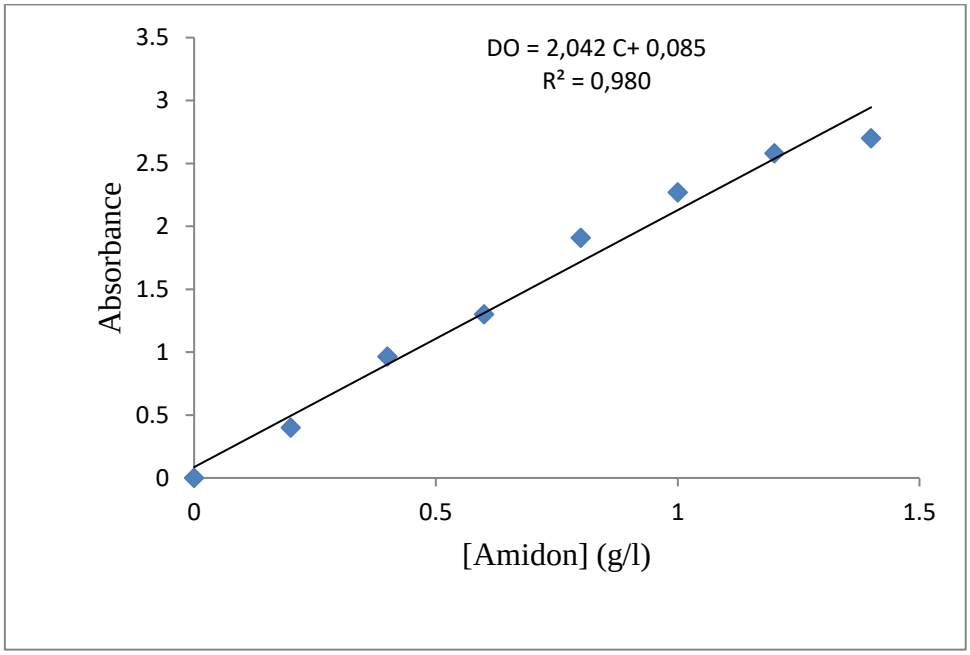


Figure 40 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de l'amidon par spectrophotométrie.

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.

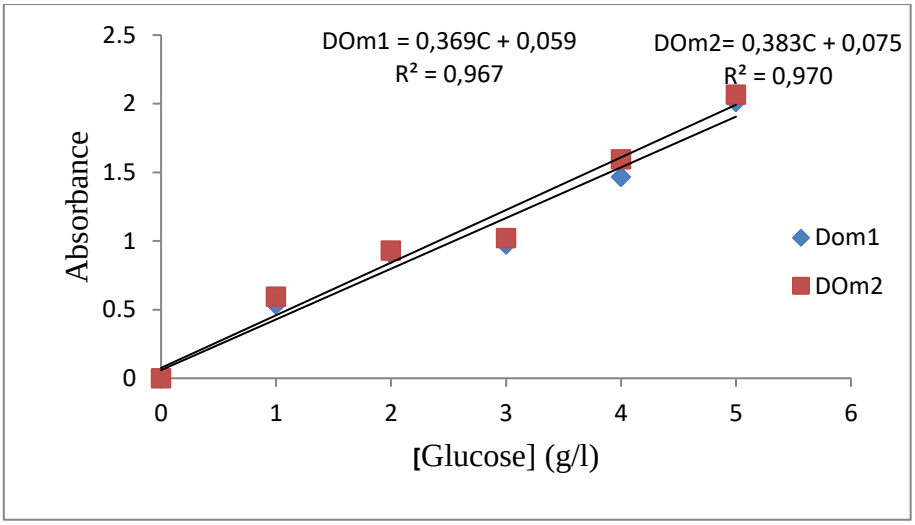


Figure 41 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de glucose par spectrophotométrie.

B) Dosage d'éthanol :

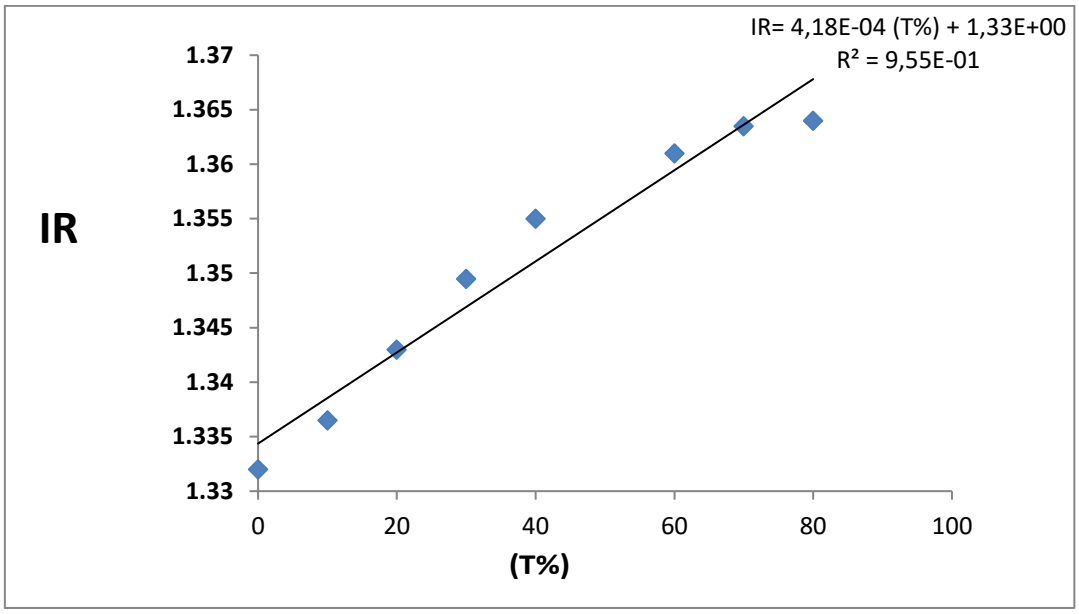


Figure 42 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de l'éthanol par mesure de l'indice de réfraction en fonction de titre volumique.