REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE

DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master En Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

par :

BOUDISSA IKRAM

&

EL MOHRI AMEL

Thème :

Production de bioéthanol à base de biomasse

Pr. ABOUSEOUD M.	UYFM	Président
Dr. SAFHA F.	UYFM	Examinatrice
Dr. ARBIA W.	UYFM	Promotrice
Dr. ATSSIST A.	UYFM	Co- promotrice

Année universitaire 2024/2025

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre gratitude à الله le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la volonté et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui nous ont soutenus et qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce mémoire.

Nous tenons particulièrement à exprimer notre profonde reconnaissance à nos encadrantes, **Dr. ARBIA W.** et **Dr. TASSIST A.**, pour avoir accepté de nous guider tout au long de ce travail, pour le temps qu'elles nous ont consacré, ainsi que pour leurs précieux conseils, leur bienveillance et leurs encouragements constants.

Nos remerciements vont également aux membres du jury :

Nous remercions chaleureusement **Pr. ABOUSEOUD M**. pour avoir accepté de présider notre jury de soutenance.

Nous exprimons aussi notre gratitude à **Dr. SAFHA F**. pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'évaluer ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi aux ingénieurs de laboratoire pour la mise à disposition des équipements et produits nécessaires à la réalisation de ce travail.

Enfin, nous remercions l'ensemble des enseignants du département, ainsi que toutes les personnes ayant, de près ou de loin, contribué à la concrétisation de ce modeste travail.

DEDICASE

J’ai l'honneur de dédier ce travail à :

Ma chère mère Amina,

Toi qui as toujours été mon pilier, mon refuge, la lumière qui a éclairé mon chemin et le cœur qui m’a enveloppée dans toutes les circonstances...

Sans toi, je ne serais jamais arrivée là où je suis aujourd’hui. Tu es la raison derrière chaque réussite, chaque instant de patience et chaque accomplissement. Merci du fond du cœur pour ton amour, tes prières et ton soutien inconditionnel.

À mon cher père,

En reconnaissance pour tous tes sacrifices, ton soutien constant et tes encouragements permanents. Je prie Dieu de te protéger, de prolonger ta vie et de te bénir.

À mes frères et sœurs,

Et tout particulièrement à ma sœur Khadija Elmohri et son époux Mohamed Sammena,

qui ont été d’un précieux soutien. Leur présence à mes côtés, leur aide et leurs encouragements ont rendu ce parcours bien plus léger. Leur appui m’a été d’une grande bénédiction.

Et enfin,

À mon amie chère, Ikram Boudissa, mon autre moitié et ma compagne de chaque instant, Merci d’avoir toujours été là, de comprendre sans que je parle, et de me soutenir sans que je demande. Ta présence dans ma vie est une véritable bénédiction, et sans toi, ce chemin n’aurait pas été le même. Je te suis infiniment reconnaissante, avec tout mon amour.

Amel

DEDICASE

À celle dont les prières ont été le secret de ma réussite,

À la source de tendresse et au grand cœur,

À celle qui a veillé et s'est fatiguée pour moi,

À ma mère Rachida...

Aucun mot de remerciement ne saurait exprimer ce que je te dois. Merci pour tout. Je n'oublierai jamais ta bonté ni ton soutien à mes côtés.

À celui qui a aussi été un pilier pour moi, mon père Hassan, je te remercie.

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude à mon cher grand-père Mohamed Boudkhani. Tu as été comme un second père pour moi. Je n'oublierai jamais ton souci constant, ta détermination et ton soutien, ni la joie que tu éprouves face à ma réussite. J'ai toujours aimé voir cette fierté briller dans tes yeux. Je te souhaite santé et bien-être.

Et enfin,

À celle qui a été à mes côtés à chaque étape, celle avec qui j'ai partagé toutes les joies,

À ma compagne de route et mon soutien dans la difficulté,

À mon amie fidèle Amel,

Je te suis reconnaissante pour les beaux moments que nous avons vécus. Reste toujours cette amie et sœur que j'aime.

Ikram

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو الاستفادة من الخبز المتعفن لإنتاج الإيثانول الحيوي باستخدام خميرة *Saccharomyces cerevisiae*. كشفت الخصائص الفيزيائية والكيميائية أن الخبز المتعفن يحتوي على حوالي 7575٪ من السكريات المختزلة. وقد سمح التحليل الفطري بتحديد الفطريات المنتجة للإنزيمات الهيدروليتية *Penicillium, Rhizopus, Aspergillus* ، مما يسهل الإفراز المستمر للسكريات. أظهرت اختبارات التخمير التي أجريت في ظروف مختلفة (755 غرام و 055 غرام من الخبز، 7٪ و 05٪ من الخميرة، 7 إلى 05 أيام) إنتاجًا مثاليًا مع 05٪ من الخميرة على مدى 7 أيام، حيث بلغت الإنتاجية 07.50 غرام/لتر/يوم والعائد الأقصى 5..0 غرام/غرام. أظهرت المتابعة الحركية وجود علاقة واضحة بين استهلاك السكريات وتطور درجة الحموضة ومراحل نمو الميكروبات. أظهر التخمير المطول آثارًا مثبطة، مما أدى إلى انخفاض الأداء العام. أكد تحديد المقطر من خلال عدة اختبارات تحليلية وجود إيثانول بنقاوة مقبولة. يؤكد هذا العمل جدوى إنتاج بيوإيثانول عالي الجودة من مخلفات الأغذية الزراعية، مع تطلع إلى التحكم في درجة الحموضة، وتحسين العملية، والتوسع شبه الصناعي، والتوعية بقيمة إعادة تدوير النفايات.

الكلمات المفتاحية: بيوإيثانول، *Saccharomyces cerevisiae*، خبز متعفن، سكريات مختزلة، تخمير، عفن

Résumé

L'objectif de cette étude est la valorisation du pain moisi pour la production de bioéthanol en utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae*. La caractérisation physico-chimique a révélé que le pain moisi contient environ 57,7% en sucres réducteurs. L'analyse mycologique a permis d'identifier des champignons producteurs d'enzymes hydrolytiques (*Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*), facilitant la libération continue des sucres. Les essais de fermentation réalisés sous différentes conditions (500 g et 200 g de pain, 5 % et 10 % de levure, 5 à 10 jours) ont mis en évidence une production optimale avec 10 % de levure sur 5 jours, atteignant une productivité de 15,32 g/L/j et un rendement maximal de 0,48 g/g. Le suivi cinétique a montré une corrélation claire entre la consommation des sucres, l'évolution du pH, et les phases de croissance microbienne. Une fermentation prolongée a montré des effets inhibiteurs, réduisant la performance globale. L'identification du distillat par plusieurs tests analytiques a confirmé la présence d'éthanol avec une pureté acceptable. Ce travail confirme la faisabilité de produire un bioéthanol de qualité à partir de résidus agroalimentaires, avec une perspective vers le contrôle du pH, l'optimisation du procédé, le scale-up semi-industriel, et la sensibilisation à la valorisation des déchets.

Les mots clés : Bioéthanol, *Saccharomyces cerevisiae*, pain moisi, sucres réducteurs, fermentation, moisissure

Abstract

The objective of this study is to valorise mouldy bread for the production of bioethanol using *Saccharomyces cerevisiae* yeast. Physicochemical characterisation revealed that mouldy bread contains approximately 57.7% reducing sugars. Mycological analysis identified fungi that produce hydrolytic enzymes (*Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*), facilitating the continuous release of sugars. Fermentation tests carried out under different conditions (500 g and 200 g of bread, 5% and 10% yeast, 5 to 10 days) showed optimal production with 10% yeast over 5 days, reaching a productivity of 15.32 g/L/day and a maximum yield of 0.48 g/g. Kinetic monitoring showed a clear correlation between sugar consumption, pH changes and microbial growth phases. Prolonged fermentation showed inhibitory effects, reducing overall performance. Identification of the distillate by several analytical tests confirmed the presence of ethanol with acceptable purity. This work confirms the feasibility of producing high-quality bioethanol from agri-food residues, with a view to pH control, process optimisation, semi-industrial scale-up, and raising awareness of waste recovery.

Keywords: Bioethanol, *Saccharomyces cerevisiae*, mouldy bread, reducing sugars, fermentation, mould

Sommaire

Introduction Générale…….. 1

Partie Bibliographique

Chapitre I : la biomasse comme source bioéthanol

I .1. Définition de biomasse……...……..… 2

I. 2. Différence entre la masse primaire et la masse secondaire…….. 2

I. 3. Les ressources constitutives de la biomasse……. 2

I. 3. 1. Les produits issus de l'agriculture……..... 2

I. 3. 2. Les co-produits et résidus de l'agriculture et de l'élevage……..... 2

I. 3. 3. Les ressources halieutiques…… 3

I. 3. 4. Le bois des forêts……...…….. 3

I. 3. 5. Les déchets naturels du bois et de la sylviculture…….…. 3

I. 3. 6. Les déchets issus des industries agro-alimentaires, des habitations et des collectivités urbaines……... 3

I. 4. Types de biomasse……...…… 3

I. 4. 1. Biomasse lignocellulosique……...…….……. 3

I. 4. 2. La Biomasse amylacée……...…….……...……. 7

I. 4. 3. La biomasse sucrière……...…… 8

I. 4. 4. La biomasse forestière…….……... 9

I. 4. 5. La biomasse agricole…….…….. 9

I. 5. La voix de conversion de la biomasse…… 9

I .5.1 Conversion Thermochimique…...……...……... 10

I. 5. 2. Conversion biochimique…… 13

I. 6. Les avantages et les inconvénients de la biomasse…… 13

Chapitre II : la production et utilisation de bioéthanol

II. 1. La définition de bioéthanol……..……. 15

II. 2. La formulation et la nomenclature…….. 15

II. 3. Les propriétés physico-chimiques…… 16

II. 3. 1. Propriétés physiques……..…….……. 16

II. 3. 2. Propriétés chimiques…...…….. 17

II. 4. Génération de bioéthanol……..... 17

II. 4. 1. Le bioéthanol de première génération…… 17

II. 4. 2. Le bioéthanol de deuxième génération……..…….……. 18

II. 4. 3. Bioéthanol de troisième génération…….…….. 22
II. 5. Projets de production du bioéthanol…… 22
II. 5. 1. A l'échelle mondiale……... 22
II. 5. 2. A l'échelle continentale …….. 23
II. 5. 3. Projets de production de bioéthanol à l'échelle nationale……... 24
II. 6. Utilisation du bioéthanol……... 24
II. 7. Les avantages et les inconvénients de bioéthanol…… 25
Chapitre III : Fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae*
III. 1. Généralités sur la levure *Saccharomyces cerevisiae*……. 28
III. 2.Classification…… 28
III. 3. Morphologie et Cytologie……... 28
III. 4. Caractéristiques biochimiques…….. 30
III. 5. Reproduction…….…….. 31
III. 5. 1. Reproduction par bourgeonnement…..……. 31
III. 5. 2. Reproduction sexuée……... 32
III. 6. Condition de culture de la levure *S. cerevisiae*……..…… 32
III. 6. 1. Besoins physico –chimique……. 32
III. 6. 2. Besoins nutritionnels……...……... 32
III. 7. Fermentation alcoolique……. 33
III. 7. 1. Définition de la fermentation alcoolique……... 33
III. 7. 2. Les différents types de culture……... 34
III. 7. 3. Procédé de la fermentation alcoolique.……. 34
III. 7. 4. Paramètres de fermentation…...……... 36
III. 7 .5. Techniques de fermentation alcoolique…… 36
IV. 1. Matériels et produits chimiques…… 40
IV. 2. Matériels Biologique……. 41
IV. 2. 1. La levure……. 41
IV. 2. 2. La biomasse…… 41
IV. 3. Caractérisation du pain moisi…….. 41
IV. 3. 1. Isolement de quelques souches du pain moisi…….. 42
IV. 3. 2. Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité……..... 42
IV. 3. 3. Dosage des sucres dans le pain moisi …… 43

a). Attaque acide du pain moisi……. 43

b). Dosage des sucres totaux de l'hydrolysat du pain moisi par la méthode de Dubois ……... 44

c). Dosage des sucres réducteurs par la méthode de l'acide dinitrosalycilique……. 44

IV. 4. Résultats et discussion de la caractérisation du pain…… 44

IV. 5. Production du bioéthanol à base de pain moisi……. 45

IV. 5. 1. Préparation de la Préculture……. 45

IV. 5. 2. Réalisation des fermentations……... 46

IV. 5. 3. La distillation……. 46

IV. 6. Résultat et Discussion des fermentations…….. 48

IV. 6.1. Analyse globale des résultats……. 49

IV. 7. Caractérisation du bioéthanol produit…….. 66

IV. 7. 1. Tests d'identification……. 66

IV. 7. 1. 1. Le test au dichromate de potassium……. 66

IV.7. 1. 2. Flambage du distillat …… 67

IV. 7. 1. 3. Test d'identification B (selon USP) [103]…… 67

IV. 7. 1. 4. Le spectre Infrarouge……... 68

IV. 7. 2. Tests de qualité…….. 69

IV. 7. 2. 1. Absorbance dans le domaine ultra-violet :(selon USP) …… 69

IV. 7. 2. 2. Test de l'Acidité (selon USP)……..…….. 70

Application…….…… 72

Conclusion générale…….……. 73

Références bibliographiques…….. 75

Liste des abréviations

FAO	Food and Agriculture Organisation
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economique
PN	Pain normale
PM	Pain moisi
PDB	Potato dextrose broth

Liste des tableaux

Tableau I. 1. Composition de biomasse lignocellulosique…… **4**

Tableau I. 2. Principales sources riches en amidon……..…….... **7**

Tableau I .3 : condition opératoire des procèdes thermochimique…….. **10**

Tableau I. 4. Les avantages et les inconvénients de la biomasse……. **13**

Tableau II. 1. Propriétés physique de l'éthanol…….……..... **16**

Tableau II. 2. Le bioéthanol de deuxième génération……. **19**

Tableau II. 3. Évolution des rendements des ressources agricoles…….. **20**

Tableau II. 4. Les principaux pays producteurs de bioéthanol en Afrique…….. **24**

Tableau II. 5. Avantages et inconvénients du bioéthanol…….……..... **26**

Tableau III. 1. Caractéristiques biochimiques de *S. cerevisiae*……..... **30**

Tableau IV. 1. Matériel et produits chimique utilisés……..…. **40**

Tableau VI. 2. Taux d'humidité, de matières sèches et de sucres totaux dans le pain moisi humide et le pain moisi sec……..... **45**

Tableau IV. 3. Les niveaux des différents facteurs du plan d'expérience……..... **48**

Tableau IV.4. La matrice expérimentale et les résultats obtenus…… **48**

Tableau IV. 5. Normes des absorbances dans le domaine de l'UV de l'éthanol (96% v/v) (92,6 % m/m) selon USP …….……. **70**

Tableau IV. 6. Absorbances dans le domaine de l'UV obtenus pour le distillat……... **70**

Liste des figures

Figure. I .1. Structure cellulaire et moléculaire de la biomasse lignocellulosique…….. **4**

Figure. I. 2. Disposition des fibrilles et des microfibrilles de la cellulose dans la paroi cellulaire végétale……. **5**

Figure. I. 3. La structure moléculaire de l'hémicellulose…… **6**

Figure. I. 4. La structure chimique de la lignine…….. **6**

Figure. I. 5. Traitement et fermentation des substrats amylacés…….. **7**

Figure I .6. Canne à sucre……..……..……..... **8**

Figure. I .7. Cycle du carbone dans l'utilisation énergétique de la biomasse……..... **9**

Figure. I. 8. Étapes de combustion de la biomasse……. **10**

Figure. I .9. Schéma présentant le processus de gazéification…… **11**

Figure. I .9. Schéma présentant le processus de gazéification…….…..... **12**

Figure. II. 1. Structure de la molécule d'éthanol……. **15**

Figure. II. 2. Procédé de production de bioéthanol par fermentation…….. **17**

Figure. II. 3. Etapes de production de bioéthanol première génération…….…… **18**

Figure. II. 4. La production de bioéthanol à partir de deuxième génération……..... **19**

Figure. II. 5. Etapes de production de bioéthanol de troisième génération ……. **20**

Figure. II. 6. Distribution de la production mondiale de bioéthanol……..... **22**

Figure. III. 1. Morphologie de *Saccharomyces cerevisiae* au MEB.…… **29**

Figure. III. 2. Représentation schématique du cycle cellulaire de *S. cerevisiae*…….. **31**

Figure. III. 3. Principe de la fermentation alcoolique du glucose par la levure *S. cerevisiae*…….…….…… **35**

Figure. III 4. Technique de fermentation et hydrolyse séparées pour la biomasse lignocellulosique……... **37**

Figure. III. 5. Saccharification et fermentation simultanées (SFS)…….……. **38**

Figure. III. 6. Schéma du procédé de distillation-rectification d'un jus fermenté……. **39**

Figure. IV. 1. Levure *Saccharomyces Cerevisiae*…… **41**

Figure. IV. 2. Biomasse utilisée (pain moisi) ……..…..…..……... **41**

Figure. IV. 3. Détermination de l'humidité (pain moisi)……. **42**

Figure. IV. 4. Aspect du pain moisi après hydrolyse…… **44**

Figure. IV. 5. Les différentes étapes de la fermentation…….. **48**

Figure. IV. 6. La quantité de l'éthanol, le rendement et la productivité de l'éthanol en fonction de différentes conditions expérimentales……..…….. **50**

Figure. IV. 7. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (200g du pain moisi, inoculum à 5% et 5jours de fermentation (N°1) …… **52**

Figure. IV. 8. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (200g du pain moisi, inoculum à 10% et 5jours de fermentation (N°3)……. **53**

Figure. IV. 9. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (200g du pain moisi, inoculum à 5% et 10jours de fermentation (N°2)…… **55**

temps (200g du pain moisi, inoculum à 10% et 5jours de fermentation (N°8)…….. **56**

Figure. IV. 11. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (500g du pain moisi, inoculum à 5% et 5jours de fermentation (N°6)…… **57**

Figure. IV.12. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (500g du pain moisi, inoculum à 5% et 10jours de fermentation (N°5)…… **58**

Figure. IV.13. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps(500g du pain moisi, inoculum à 10% et 10jours de fermentation(N°7)…… **60**

Figure IV. 14. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps(500g du pain moisi, inoculum à 10% et 5jours de fermentation (N°4)…….. **61**

Figure. IV.15. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (350g du pain moisi, inoculum à 7.5% et 7.5jours de fermentation……..... **63**

Figure IV. 17. Aspect microscopique de la première souche fongique isolée à partir du pain moisi (après 7 jours d'incubation à température ambiante)…… ….……. **64**

Figure IV. 18. Aspect microscopique de la deuxième souche fongique isolée à partir du pain moisi (après 7 jours d'incubation à température ambiante…….…….. **66**

Figure IV. 19. Aspect microscopique de la troisième souche fongique isolée à partir du pain moisi (après 7 jours d'incubation à température ambiante)…….. **67**

Figure. IV. 20. Résultat de la révélation de l'éthanol dans le distillat global au bichromate de potassium…….. **72**

Figure. 21. Résultat du flambage du distillat…… … **69**

Figure. IV. 22. Résultat du test d'identification B……. **70**

Figure. IV. 23 : Spectre Infrarouge de (a) distillat de l'expérience N°6 (b) éthanol (96%)……. **71**

Figure. IV. 24. Résultat de Test de l'acidité……..…… **73**

Introduction générale

La population mondiale augmente et le secteur industriel ne cesse de se développer, entraînant une demande croissante en énergie. Les combustibles fossiles représentent 55 % de la consommation énergétique mondiale. Parallèlement, les préoccupations environnementales liées à la pollution et aux émissions résultant de leur utilisation augmentent, ce qui a poussé les chercheurs à rechercher des alternatives énergétiques durables et respectueuses de l'environnement.

Le bioéthanol est l'une de ces alternatives prometteuses, car il peut être produit à partir de sources renouvelables, ce qui en fait une option durable pour faire face à la crise énergétique mondiale et réduire la dépendance au pétrole et au gaz naturel. Avec la nécessité croissante de réduire les émissions de carbone, il devient essentiel de développer des technologies permettant de produire un carburant propre et efficace, notamment à partir de déchets organiques comme le pain moisi, qui constitue une part importante des déchets alimentaires dans le monde.

La conversion du pain moisi en éthanol bio est une solution innovante qui combine l'élimination des déchets organiques et leur valorisation pour la production d'une énergie renouvelable. Grâce aux processus de fermentation biologique, l'amidon et les sucres contenus dans le pain sont transformés en alcool éthylique, pouvant être utilisé comme biocarburant dans divers secteurs, tels que le transport et l'industrie. Cette technique ne permet pas seulement de tirer parti des excédents alimentaires non consommés, mais elle contribue également à la réduction de la pollution environnementale et à la diminution de l'impact négatif des déchets organiques.

Le pain est un aliment de base en Algérie, où sa consommation est élevée. Cependant, cette consommation est accompagnée d'un phénomène préoccupant de gaspillage, les études indiquant qu'environ 30 % des aliments sont gaspillés, le pain représentant une grande partie de ce gaspillage.

L'objectif de notre travail est la production de bioéthanol par la valorisation du pain moisi par voie fermentaire ainsi que l'étude cinétique de l'évolution de différents paramètres qui peuvent influencer ce procédé.

Notre mémoire sera organisée en deux parties : La partie théorique, où nous avons présenté les différentes biomasses et les méthodes de conversion. Nous avons également présenté les différents types de bioéthanols. La partie expérimentale, qui comporte le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail ainsi que tous les résultats obtenus et leurs interprétations. Enfin, nous terminerons par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus lors de ce travail ainsi que quelques perspectives.

Chapitre I : la biomasse comme source bioéthanol

I .1. Définition de biomasse

La biomasse fait référence aux matières organiques pouvant être converties en énergie. Nous pouvons tirer parti des divers déchets produits dans notre environnement, qu'ils soient d'origine agricole, animale ou humaine, afin de les exploiter comme une source d'énergie renouvelable. Ces déchets nuisent à l'environnement et représentent un fardeau économique et écologique lorsqu'ils sont éliminés, en particulier si cette élimination n'est pas effectuée de manière écologique.

Selon l'Union Européenne, la biomasse est définie comme suit :

"La biomasse est la fraction biodégradable des produits, déchets et résidus provenant de l'agriculture, y compris les substances végétales et animales issues de la terre et de la mer, de la sylviculture et des industries connexes, ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et ménagers » **[1].**

I. 2. Différence entre la masse primaire et la masse secondaire

Il existe deux types de biomasse la biomasse brute ou primaire et la biomasse secondaire. La biomasse secondaire est toute matière dérivée de la biomasse brute mais qui a subi des modifications chimiques et physiques importantes. La biomasse secondaire comprend le papier et le carton, le cuir, les liqueurs de fabrication de pâte à papier, le coton, le lin, le chanvre, les produits à base de caoutchouc naturel, les boyaux dérivés de la cellulose, les huiles de cuisson usagées, le lactosérum de fromage…etc. **[2].**

I. 3. Les ressources constitutives de la biomasse

D'une manière générale, les ressources de la biomasse accessibles sur notre planète, issues de grands domaines de production, peuvent être classées de la manière suivante :

I. 3. 1. Les produits issus de l'agriculture

Les produits issus de l'agriculture (blé, maïs, pommes de terre, betterave, canne à sucre, colza, tournesol, soja, palme et autres) et de l'élevage (graisses notamment), tous dédiés initialement du moins à l'alimentation humaine ou animale auxquels s'ajoutent des plantes dédiées à la culture énergétique, comme le miscanthus géant pour le bioéthanol, le switch Grass ou le colza pour le biodiesel **[3].**

I. 3. 2. Les co-produits et résidus de l'agriculture et de l'élevage

Les coproduits et résidus de l'agriculture et de l'élevage : pailles, pulpes, drèches, tourteaux, fumier de bovins, lisier de porcs, fientes de volailles ;

I. 3. 3. Les ressources halieutiques

Les produits animaux de la mer et des zones humides et leurs déchets, algues et microalgues, ces dernières promises à un grand avenir car très riches en énergie **[3].**

I. 3. 4. Le bois des forêts

Le bois des forêts qui fournit en majeure partie les ressources de bois-énergie, utilisées pour la cuisson des aliments, le chauffage des logements et des collectivités que complètent aussi les plantations d'arbres à vocation énergétique, comme le peuplier, le pin, l'eucalyptus ou les taillis à courte rotation (TCR), soit quelques années, en saule notamment **[3].**

I. 3. 5. Les déchets naturels du bois et de la sylviculture

Les déchets naturels du bois et de la sylviculture (plaquettes, sciure) ainsi que ceux des industries du bois de construction (copeaux, sciure) et du bois d'emballage (cagettes, palettes, tonnellerie), à l'exception de ceux traités par des produits chimiques toxiques **[3].**

I. 3. 6. Les déchets issus des industries agro-alimentaires, des habitations et des collectivités urbaines

Souvent humides ou même liquides, parmi lesquels les boues des eaux usées, les ordures ménagères et résidus organiques des déchetteries, les résidus de la distribution et des cafés-restaurants ou ceux des espaces verts **[3].**

I. 4. Types de biomasse

I. 4. 1. Biomasse lignocellulosique

Au cœur des transitions énergétiques vers la durabilité, la biomasse lignocellulosique se dresse comme un pilier fondamental, bien plus qu'une simple alternative : une véritable révolution pavant la voie à la production de bioéthanol de deuxième génération. Sa nature exceptionnelle dépasse les concepts énergétiques traditionnels, faisant d'elle un élément central dans cette quête scientifique.

La matière lignocellulosique est le constituant principal de la paroi cellulaire des plantes. Elle est la source de carbone renouvelable la plus abondante de la planète. Elle est constituée de trois éléments majeurs qui sont la cellulose, l'hémicellulose et la lignine **(fig. I.1) [4].**

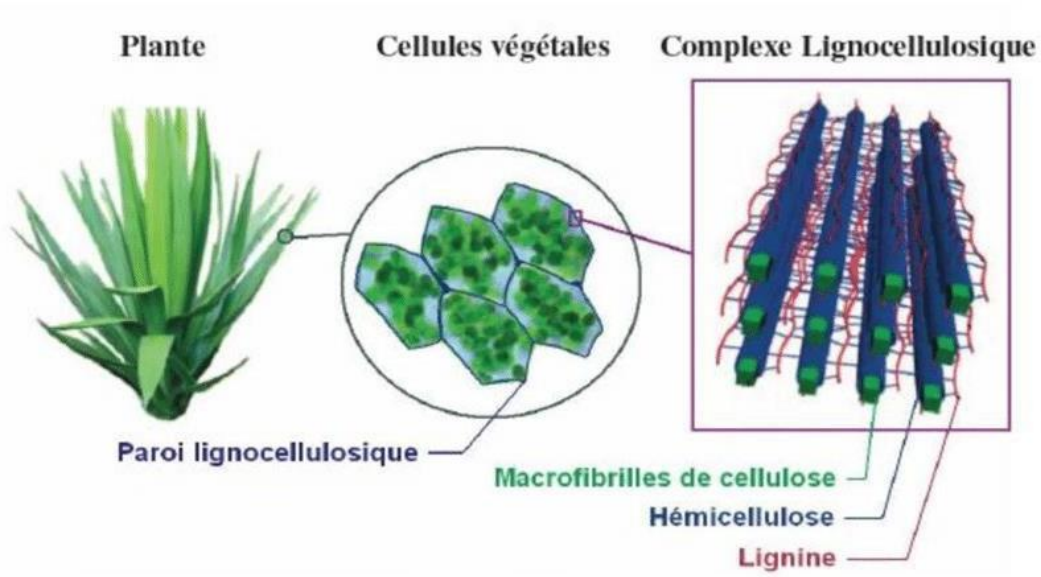


Fig. I .1. Structure cellulaire et moléculaire de la biomasse lignocellulosique [5].

À l'intérieur de la biomasse lignocellulosique, ces trois macromolécules s'entremêlent et forment une structure tridimensionnelle complexe et très résistante, maintenue par des liaisons hydrogène et des liaisons covalentes, qui résiste aux attaques de phytopathogènes et qui confère de la rigidité aux plantes. La proportion et la nature de chacune des macromolécules sont fonction de l'origine botanique de la matière **(Tableau I. 1) [6].**

Tableau I. 1. Composition de biomasse lignocellulosique [7].

	Cellulose	**Hémi cellulose**	**Lignine**
Bois dur	40 - 55 %	24 - 40 %	18 - 25 %
Bois tendre	45 - 50 %	25 - 35 %	25 - 35 %
Pailles	30 - 40 %	22 – 35 %	15 - 23 %
Herbes	25 – 40 %	35 – 50 %	10 - 30 %

a) Cellulose

La cellulose $(C_6H_{12}O_5)_n$ ou β-(1, 4) glucane est le polymère le plus abondant sur terre. Elle constitue la paroi des cellules végétales assurant la protection et le soutien des organismes végétaux **[8]**. C'est l'élément principal des plantes, utilisé comme source appréciée pour stocker une énorme quantité d'énergie par l'action de la photosynthèse. La cellulose est un

homopolysaccharide linéaire constitué d'un enchainement d'unités de glucose (D-glucopyranose) ayant des groupements hydroxyles (OH) libres sur les positions 2, 3 et 6 et liées entre elles par des liaisons β-(1,4) glycosidiques. L'unité récurrente de la cellulose est le disaccharide cellobiose **[7] (fig. I. 2).**

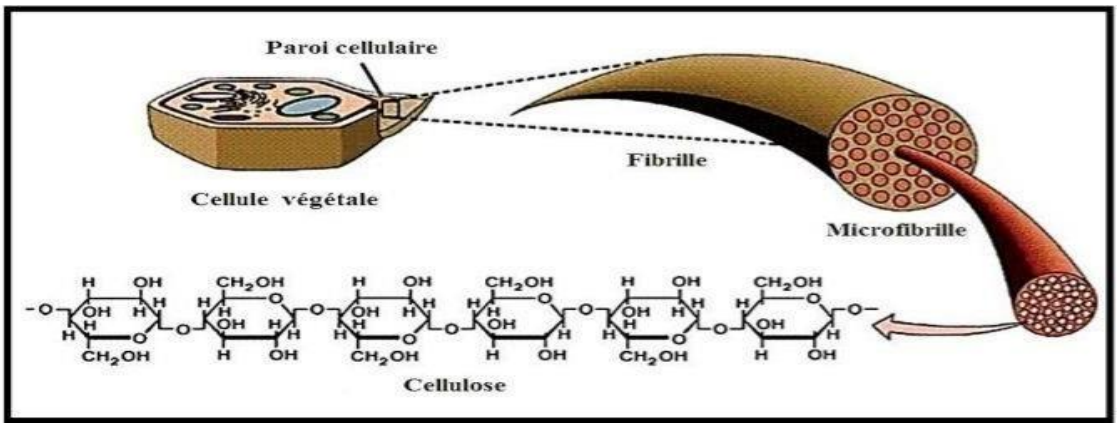


Fig. I. 2. Disposition des fibrilles et des microfibrilles de la cellulose dans la paroi cellulaire végétale [9].

B) Hémicelluloses

Les hémicelluloses, deuxièmes polysaccharides les plus abondants dans la nature après la cellulose, représentent environ 20 à 35 % de la biomasse lignocellulosique. Les xylanes en sont les plus répandues.

Ce sont des polymères hétérogènes constitués de pentoses (xylose, arabinose), d'hexoses (mannose, glucose, galactose) et d'acides uroniques. Contrairement à la cellulose, les hémicelluloses ne sont pas chimiquement homogènes.

Celles des feuillus sont principalement composées de xylanes, tandis que celles des résineux sont riches en glucomannanes **[8].** Les xylanes issus de nombreuses matières végétales sont des hétéropolysaccharides dont la chaîne principale est un homopolymère d'unités β-D-xylopyranose liées en position **(fig. I. 3)**

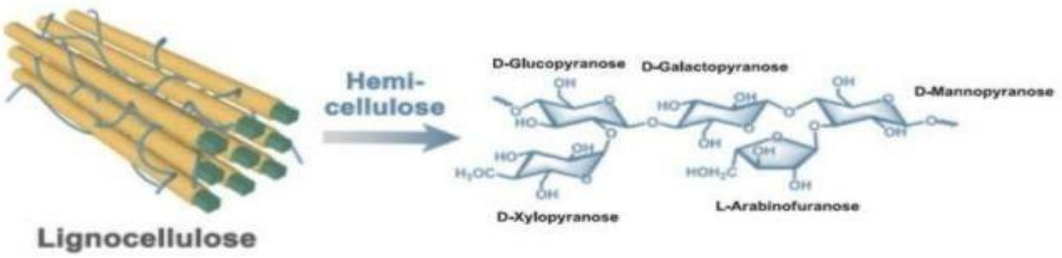


Fig. I. 3. La structure moléculaire de l'hémicellulose [10].

C) La lignine

Est un polymère organique complexe contenant de l'oxygène qui, avec la cellulose, constitue le principal constituant du bois. Après la cellulose, elle est la matière organique la plus abondante sur Terre. Présent en grande quantité et constituant structurel important des plantes. La lignine agit comme liant pour les polysaccharides (cellulose, hémicellulose et pectine) qui constituent la majeure partie des parois cellulaires végétales **[11].** La lignine est un polymère polyphénolique réticulé dérivé principalement de trois monomères d'alcool hydroxycinnamoyle, à savoir l'alcool p-coumarylique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapyliquefa **(fig. 4).**

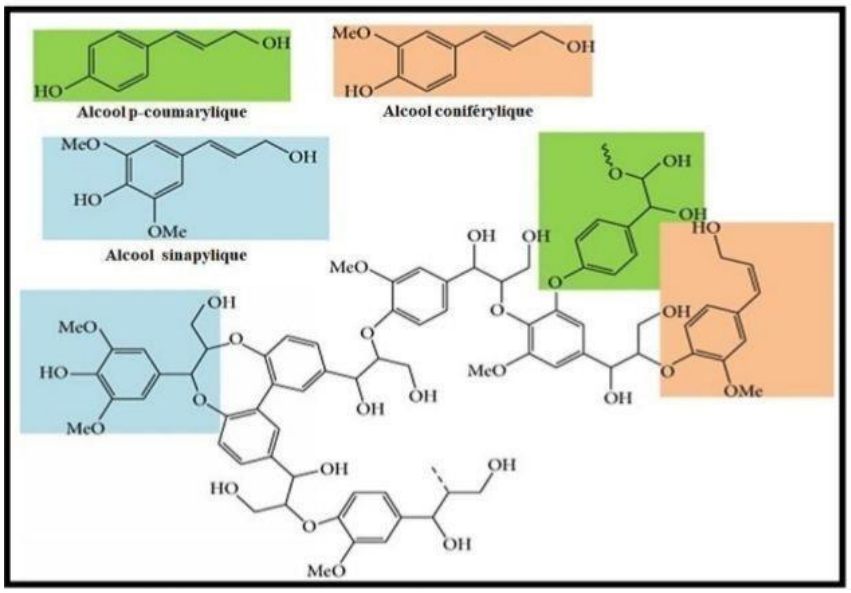


Fig. I. 4. La structure chimique de la lignine [13].

Ils sont de nature relativement hydrophobe et aromatique. La lignine est extrêmement résistante à la dégradation enzymatique due à sa complexité structurale. La lignine non seulement donne de la résistance au tissu végétal en raison de sa rigidité, mais elle affecte également le transport de l'eau, des nutriments et des métabolites **[12].**

I. 4. 2. La Biomasse amylacée

La biomasse amylacée désigne les matières organiques riches en amidon qui sont utilisées comme source d'énergie renouvelable ou dans la production de biocarburants **(tableau I. 2).** L'amidon est un glucide complexe constitué d'unités de glucose liées par des liaisons glycosidiques, considéré comme la principale forme de stockage d'énergie **[16].** L'amidon des plantes est composé de deux composants : l'amylose et l'amylopectine.

Il est également considéré la plus utilisée pour la production d'éthanol aux Etats-Unis d'Amérique **[17].** Parce que le maïs ordinaire contient 25 % d'amylose, tandis que le maïs à haute teneur en amylose contient 50 à 70 % d'amylose et le maïs cireux (maïs jaune) en contient moins de 2%. Le reste de l'amidon est constitué d'amylopectine. Sa structure est complexe et il est souvent le composant principal de l'amidon.

Tableau I. 2. Principales sources riches en amidon [18].

Source	Nom scientifique	Teneur en amidon/sucre	Utilisations
Blé	*Triticum aestivum*	60 – 70 %	Agrocarburants /Alimentation
Pomme de terre	*Solanum tuberosum*	15 – 25 %	Industrie agroalimentaire
Manioc	*Manihot esculenta*	70 – 80 %	Source d'éthanol en Afrique / Asie

Les plantes amylacées peuvent être traitées selon deux procédures mettant en œuvre des moutures sèches ou humides, avant la fermentation et la production du bio-éthanol **(fig. I. 5).**

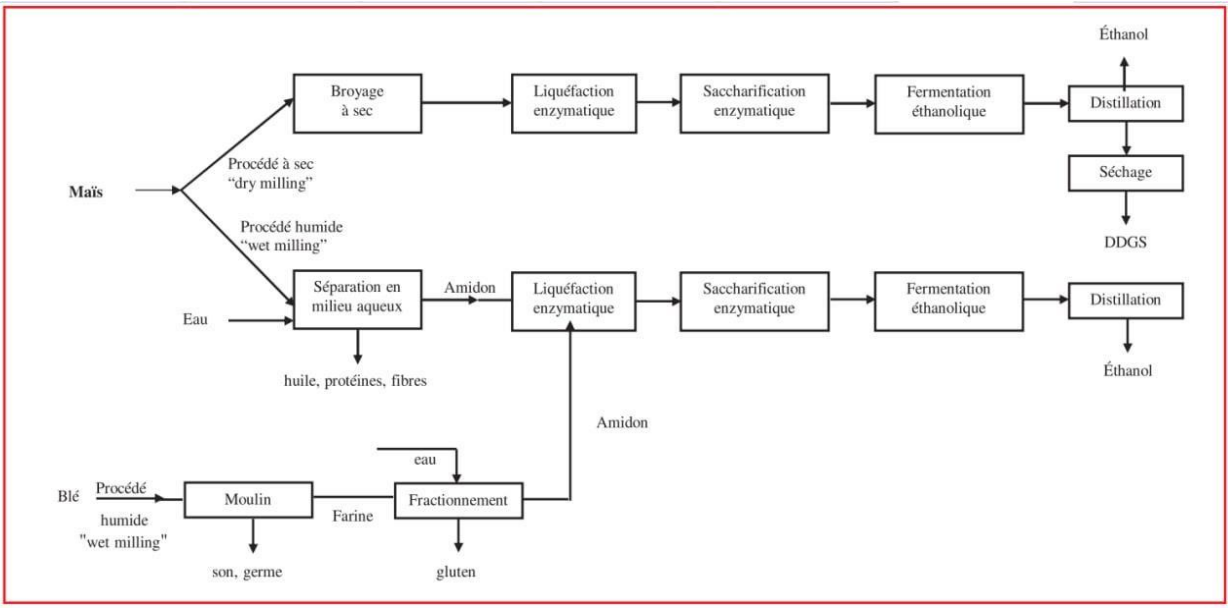


Fig. I. 5. Traitement et fermentation des subasrat amylacée [13]

I. 4. 3. La biomasse sucrière

La canne à sucre est une herbe géante tropicale de la famille des graminées, dont la tige a la particularité de stocker un sucre cristallisable, le saccharose. La transformation industrielle de ses tiges en sucre et en rhum est sa principale utilisation. Mais l'imposante masse végétale de cette plante est également convertible en énergie — combustible, charbon, biocarburant — et constitue aussi un véritable réservoir de molécules pour l'industrie chimique **[19].**



Fig I .6. Canne à sucre [20].

I. 4. 4. La biomasse forestière

La biomasse forestière est la matière organique collectée dans les forêts et comprend les arbres, les racines, les feuilles, les branches et d'autres parties de plantes, ainsi que les résidus générés par l'homme tels que le bois abattu, la paille et l'écorce. La biomasse forestière représente également la canne à sucre, largement utilisée au Brésil et qui est la plante sucrière la plus utilisée au monde., l'éthanol de canne à sucre représentait un tiers de la production mondiale d'éthanol **[21].**

La biomasse forestière est une source importante pour la production de biocarburants, en particulier d'éthanol et de biodiesel, car elle peut être convertie en carburants propres et renouvelables grâce à sa teneur organique **[22].**

I. 4. 5. La biomasse agricole

La biomasse agricole fait référence à l'ensemble des matières organiques provenant des activités agricoles qui peuvent être utilisées comme source d'énergie ou de matière première pour diverses industries. Cela inclut les résidus de culture (comme les tiges, les feuilles, les épis de maïs, etc.), les déchets animaux (fumiers), ainsi que d'autres sous-produits issus de l'agriculture. (Tels que les coques, les pulpes, ou les enveloppes végétale.)

Est une forme d'énergie renouvelable, car elle peut être revalorisée par des procédés tels que la combustion et la digestion anaérobie. Elle est souvent utilisée pour produire de l'électricité, de la chaleur ou pour être transformée en biocombustibles (comme l'éthanol ou le biodiesel **[23].**

I. 5. La voix de conversion de la biomasse

La biomasse peut être convertie en produits énergétiques via deux grandes catégories de processus : thermochimique et biochimique **[14] (Fig. I. 7).**

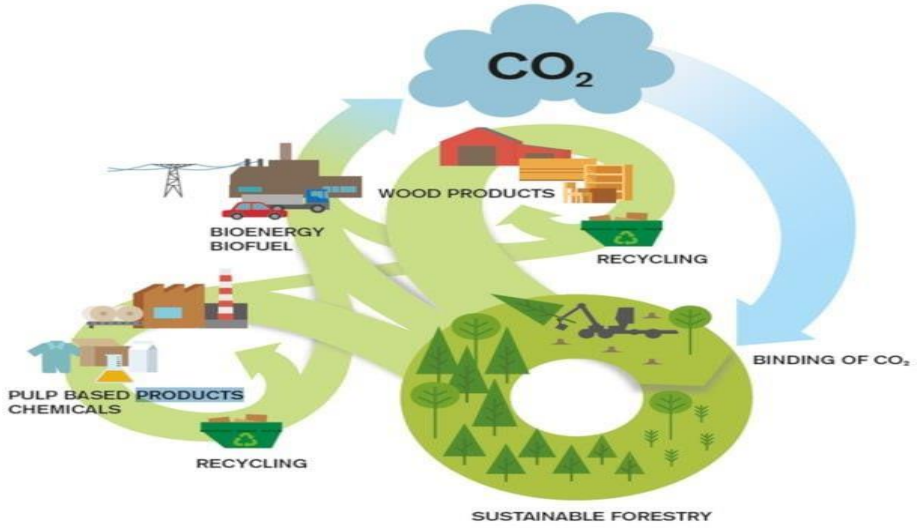


Fig. I .7. Cycle du carbone dans l'utilisation énergétique de la biomasse [15].

I. 5. 1. Conversion Thermochimique

Ces procédés utilisent la chaleur pour transformer la biomasse en différentes formes d'énergie ou en produits intermédiaires. Les principales méthodes sont présentées dans le **(tableau I. 3)**

Tableau I. 3. Condition opératoire des procèdes thermochimique [16].

Procédé	Température	Atmosphère	Produits	Rendement
Combustion	>900°C	O_2 (air)	$CO_2 + H_2O + N_2$ + Cendres à traiter	~ 65 %
Pyrolyse	<700°C	Gaz inerte ou faible pression	Charbon + goudrons + gaz	~ 45%
Gazéification par pyrolyse rapide	>700°C	Gaz inerte ou faible pression	Gaz (CO ; H_2 ; CH_4 ; C_2H_4…) + faible quantité charbon	~ 75%
Gazéification	>800°C	Air ou H_2O vapeur	Gaz = (H_2 ; CO ; CO_2 ; H_2 ; CH_4 ; N_2…) + cendres à traitre	50 - 60%

A) la combustion

La combustion est un processus chimique exothermique qui implique la réaction d'une substance oxydante (généralement l'oxygène de l'air) avec une substance combustible (le carburant). La combustion est utilisée sur une large gamme de produits pour convertir l'énergie chimique stockée dans la biomasse en chaleur, en énergie mécanique ou électricité.

La combustion de la biomasse produit des gaz chauds à des températures autour de 800-1000°C. Il est possible de brûler tout type de biomasse, mais en pratique, la combustion est réalisée uniquement pour la biomasse dont la teneur en humidité intrinsèque est inférieure à 50%. En effet, la biomasse à forte teneur en humidité est mieux adaptée aux processus de conversion biologique **[24]** (**Fig. I. 8).**

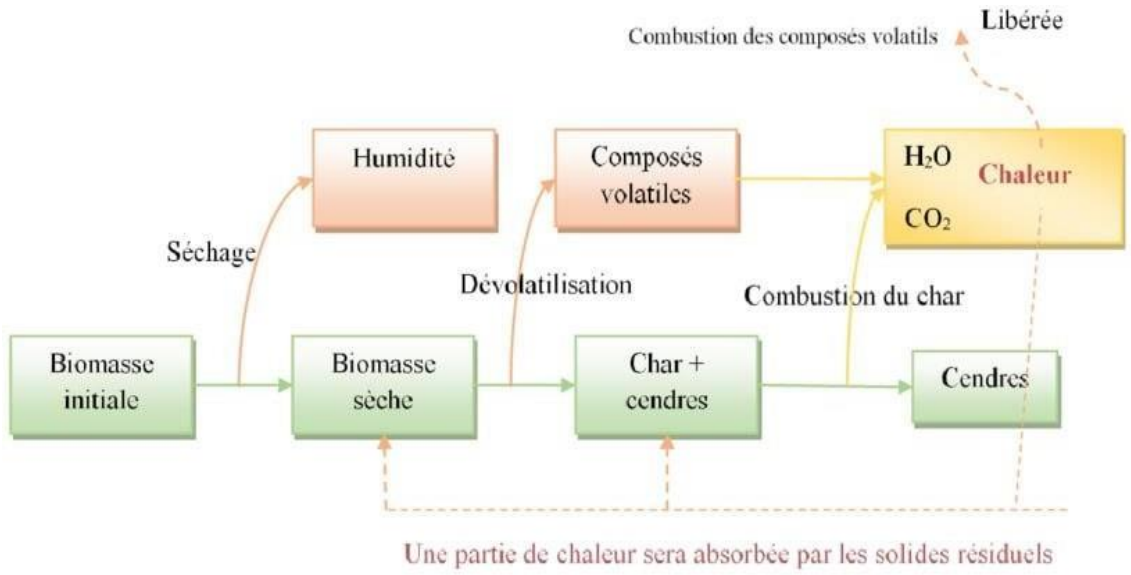


Fig. I .8. Étapes de combustion de la biomasse [25].

B) la gazéification

La « gazéification » désigne une transformation thermochimique consistant à décomposer par la chaleur un solide combustible carboné (charbon, biomasse) en présence d'un réactif gazeux (gaz carbonique, vapeur d'eau puis oxygène/air) dans le but d'obtenir un mélange gazeux combustible.

La réaction de gazéification se passe dans des conditions de température très élevées (plus de 1000°C). Le gaz de synthèse obtenu à la fin, appelé « syngas » (pour « synthétique Gas »), est un mélange de deux gaz combustibles : le monoxyde de carbone (CO) et l'hydrogène (H_2).

Ce syngas est utilisé principalement :

- Comme source de production de chaleur
- Comme source de production d'électricité par l'action du gaz sur des turbines
- Comme source de production d'hydrogène, de méthanol et de méthane par traitement chimique

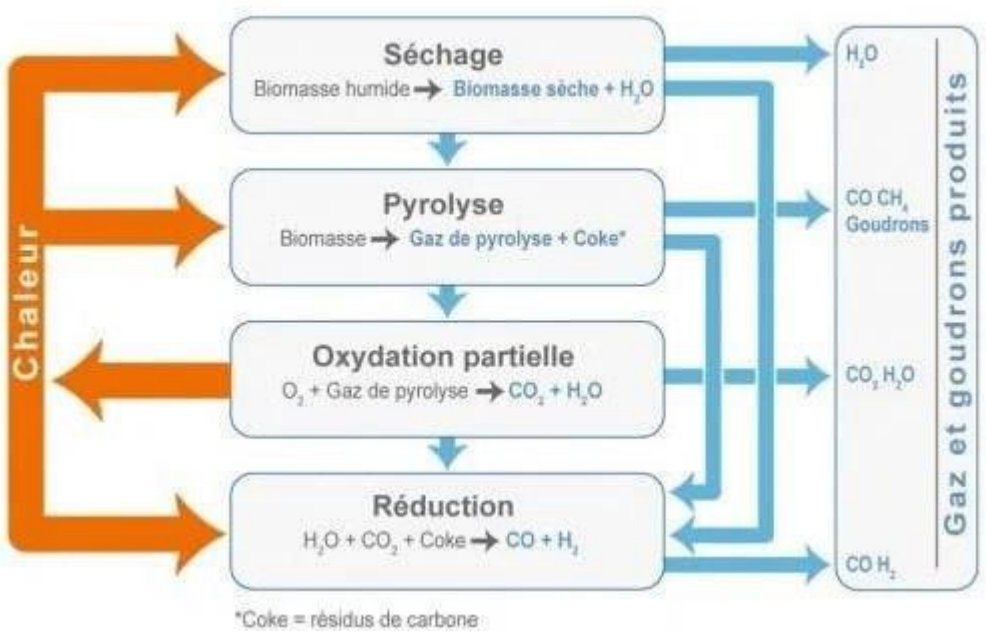


Fig. I. 9. Schéma présentant le processus de gazéification [26].

C) La pyrolyse

La pyrolyse est le processus de décomposition de la matière organique en ses éléments constitutifs à des températures élevées. Le procédé de pyrolyse est une forme de transformation de la biomasse qui dérive de sa racine étymologique pyrole (feu) et lyse (coupe), ce procédé est basé sur la température de décomposition à des températures comprises entre 300 et 600°C en absence d'oxygène. Ce processus est, soit réalisé sous vide, soit en présence d'un gaz inerte (tel que l'azote), il est également connu sous le nom de thermochimique **[27].**

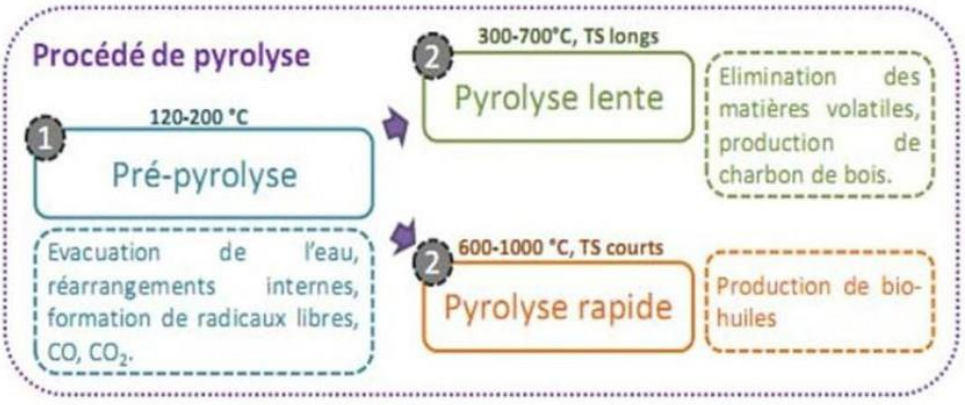


Fig. I .9. Schéma présentant le processus de gazéification [28].

I. 5. 2. Conversion biochimique

La conversion biochimique de la biomasse est un processus de décomposition sous l'action de bactéries. Il peut être contrôlé pour un accès facile au carburant. Trois voies de conversion biochimique de la biomasse sont particulièrement intéressantes. Deux filières principales sont utilisées pour produire des biocarburants de première génération (le bioéthanol pour les véhicules à essence et l'huile végétale ou le biodiesel pour les véhicules diesel), et une filière pour la production de biogaz **[27].**

A) La fermentation

La fermentation est une réaction biochimique de conversion de l'énergie chimique contenue dans une source de carbone (glucose souvent) en une autre forme d'énergie directement utilisable par la cellule en l'absence de dioxygène (milieu anaérobie) **[29].**

b) La méthanisation

La méthanisation est un procédé biochimique impliquant la fermentation de la matière organique pour la transformer en compost par des bactéries, du méthane et du dioxyde de carbone en l'absence d'air, la méthanisation est le procédé des déchets organiques provenant de diverses sources origines et la Température de méthanisation :

Généralement entre 30 et 40°C, où la température est entre 45 et 60°C. Le dernier processus est plus rapide que le premier, mais aussi plus fragile et Le processus de méthanisation peut être divisé en plusieurs étapes :

- L'hydrolyse transforme des molécules complexes (cellulose, lipides, protéines...) en molécules plus simples (acides gras...).
- Acidogène : convertit ces acides en acide acétique, gaz carbonique et hydrogène.

Les méthanogènes convertissent l'acide acétique en méthane et en dioxyde de carbone, et le dioxyde de carbone et l'hydrogène en méthane **[30].**

I. 6. Les avantages et les inconvénients de la biomasse

La biomasse présente de nombreux avantages et inconvénients comme il est indiqué dans le **(Tableau. I. 4.)**

Tableau I. 4. Les avantages et les inconvénients de la biomasse

Les avantages	Inconvénients
La valorisation énergétique de la biomasse peut permettre d'augmenter la part des énergies renouvelables dans un mix énergétique et de réduire la dépendance au pétrole ou au gaz **[31].**	L'utilisation de la biomasse peut toutefois dans certains cas engendrer des déséquilibres environnementaux. L'amalgame entre énergie renouvelable et énergie « propre » est fréquent **[31].**
L'énergie biomasse est renouvelable, le stock est donc inépuisable s'il est géré durablement ce qui bon pour vous et pour l'environnement **[32].**	Avec l'augmentation des consommateurs de la biomasse, les prix ont tendance à augmenter également. C'est notamment le prix de la recherche et développement dans le secteur des renouvelables qui tend à enfler les prix de ces énergies vertes **[32].**
La biomasse participe à la lutte contre les émissions de gaz à effet de serre dans la mesure où le CO_2 dégagé par la combustion des bioénergies est compensé par le CO_2 absorbé par les végétaux lors de leur croissance **[31].**	La combustion de la biomasse solide (comme le bois) cause des émissions de polluants (monoxyde de carbone, particules,) plus importantes que la combustion de pétrole ou de gaz, à moins que des mesures supplémentaires ne soient prises **[31].**
La valorisation de déchets permet de trouver un débouché économique pour de nombreuses filières, telles que l'agriculture, la sylviculture et la restauration collective **[31].**	La biomasse nécessite une gestion minutieuse des forêts et des stocks naturels, sans quoi, l'équilibre n'est plus garanti, amenant à la déforestation et à l'appauvrissement de la biodiversité **[32].**
La diversité des matières organiques constituant la biomasse permet à de nombreux pays d'avoir accès à cette ressource. Elle peut donc favoriser leur indépendance énergétique **[31].**	L'apparition de monocultures (culture du maïs). La Concurrence pour l'utilisation des terres restera Toujours un facteur important pour la biomasse et là Bioénergie **[32].**

Chapitre II : la production et utilisation de bioéthanol

II. 1. La définition de bioéthanol

Le bioéthanol est un alcool produit par fermentation des matières organiques d'origine végétale, notamment les sucres et l'amidon contenus dans certaines plantes. Il constitue une alternative renouvelable aux carburants fossiles, et peut également être utilisé comme solvant ou désinfectant dans diverses applications industrielles. On distingue deux types d'éthanol : l'éthanol d'origine biologique (bioéthanol) et l'éthanol de synthèse issu de la pétrochimie **[33].** La version synthétique de l'éthanol est issue du pétrole. Elle est produite par hydrolyse de l'éthylène. Chaque année, environ 2 millions de tonnes d'éthanol synthétique sont produites dans le monde.

La version biologique de l'éthanol, qu'on appelle couramment bioéthanol, est un alcool fabriqué à partir de biomasse **[34].** Il est obtenu par la fermentation des sucres fermentescibles contenus dans la biomasse en présence d'une levure, *Saccharomyces ceveresiae* qui est l'une des levures les plus utilisées pour la fermentation alcoolique.

Le bioéthanol peut être produit à partir de substrats riches en sucrose (canne à sucre, betterave sucrière, etc.), en amidon (maïs, orge, blé, pomme de terre, etc.) et des substrats cellulosiques tels que les résidus agricoles (la paille ou les cannes de maïs), les résidus forestiers, cultures énergétiques (le panic érigé ou des arbres à courte rotation) **[35].**

II. 2. La formulation et la nomenclature

L'éthanol fait partie de la famille chimique des alcools dont la formule chimique est présentée dans **(fig. II. 1**).

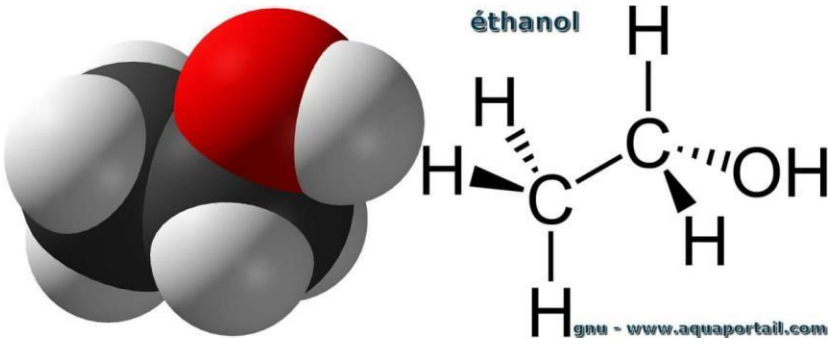


Fig. II. 1. Structure de la molécule d'éthanol

II. 3. Les propriétés physico-chimiques

II. 3. 1. Propriétés physiques

L'éthanol est un liquide mobile, incolore, volatil, d'odeur plutôt agréable, décelable dès 84 ppm. L'éthanol est miscible à l'eau, le mélange se faisant avec dégagement de chaleur et contraction du liquide : 1 volume d'éthanol + 1 volume d'eau donnent 1,92 volume de mélange. Par contre il y a expansion du liquide lorsque l'éthanol est mélangé à de l'essence. L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels. C'est un bon solvant des graisses et il dissout de nombreuses matières plastiques. Le titre d'un mélange eau/éthanol est le rapport entre le volume d'alcool absolu contenu dans ce mélange et le volume de celui-ci à 15°C ; il est exprimé en % en volume. Il 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 % (**Tableau II. 1) [36].**

Tableau II. 1. Propriétés physique de l'éthanol [36].

Nom substance	**Détails**	
Éthanol	N°CAS	**64-17-5**
	Etat physique	**Liquide**
	Masse molaire	**46.07**
	Point de fusion	**-114°C**
	Point d'ébullition	**78°C**
	Densité	**0.789**
	Densité gaz/vapeur	**1.95**
	Pression de vapeur	**5,9 kPa à 20 °C** **10 kPa à 30°C** **29,3 kPa à 50°C**
	Indice d'évaporation	**8.3(oxyde de d'éthyle=1)** **2.4(acétate de n-butyle=1)**
	Point de d'éclair	**13 °C (éthanol pur) : 17 °C (éthanol à 95% vol.) ;21°C (éthanol à 70% vol.) : 49°C (éthanol à 10% vol.** **62°C** **(Éthanol à 5% vol.)** **(tous en coupelle fermée)**
	Température d'auto-inflammation	**363 à 425°C (selon les sources)**
	Limbes d'explosivité ou d'inflammabilité (en volume% dans l'air)	**Limite inférieure :3.3%** **Limite supérieure : 19 à 22,7%** **(selon les sources)**

	Coefficient de partage n-octanol / eau (log Pow)	**-0.31**

II. 3. 2. Propriétés chimiques

Dans les conditions normales, l'éthanol est un produit stable. Il possède les propriétés générales des alcools primaires (réactions d'oxydation, déshydrogénation, déshydratation et estérification). Il peut réagir vivement avec les oxydants puissants : acide nitrique, acide perchlorique, perchlorates, peroxydes, permanganates, trioxyde de chrome...La réaction avec les métaux alcalins conduit à la formation d'éthylate et à un dégagement d'hydrogène ; elle peut être brutale sauf si elle est réalisée en absence d'air pour éviter la formation de mélanges explosifs air-hydrogène. Le magnésium et l'aluminium peuvent également former des éthylates, la plupart des autres métaux usuels étant insensibles à l'éthanol **[36].**

II. 4. Génération de bioéthanol

La production de bioéthanol **(Fig. II. 2)** à partir de biomasse représente une option plus durable et largement distribuée. Ce domaine a connu une évolution à travers trois générations distinctes, qui se différencient en fonction du type de matières premières utilisées dans le processus de production **[37].**

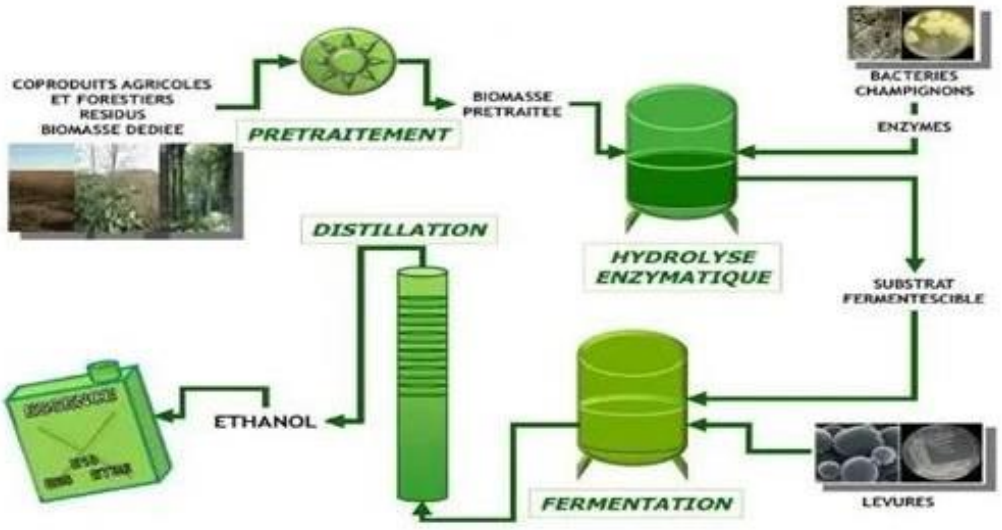


Fig. II. 2. Procédé de production de bioéthanol par fermentation [38].

II. 4. 1. Le bioéthanol de première génération

Le bioéthanol est obtenu par fermentation alcoolique de sucres fermentescibles (glucose, saccharose, etc.) **[39].** Ces sucres sont soit directement présents dans la plante (canne

à sucre, betterave sucrière), soit obtenus après hydrolyse enzymatique de l'amidon contenu dans les grains de blé ou de maïs **[40]**. Cependant, le principal inconvénient de la première génération de bioéthanol est la menace d'une limitation de l'approvisionnement alimentaire qui peut affecter la population mondiale humaine, car les matières premières et ses dérivées provenant de sources alimentaires **(Fig. II. 3).** Des millions de personnes dans le monde souffrent actuellement de la faim ainsi que de la malnutrition et, de plus, l'utilisation des ressources alimentaires pour le carburant, peut entraîner une augmentation des prix des denrées alimentaires.

Le bioéthanol de première génération est économiquement peu viable, car une grande partie du carbone contenu dans les plantes est perdue lors du processus de conversion **[41].**

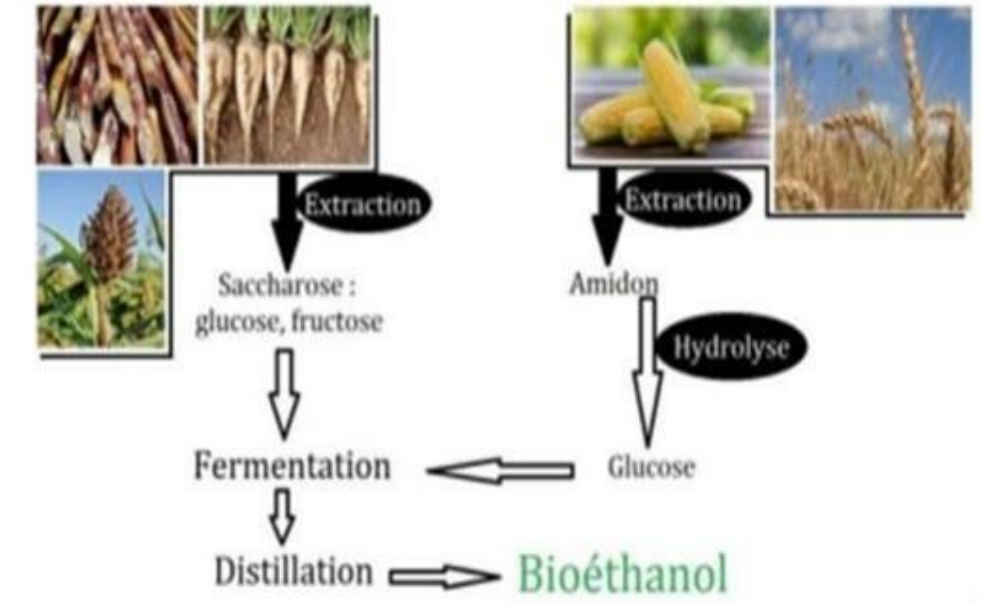


Fig. II. 3. Etapes de production de bioéthanol première génération [42].

II. 4. 2. Le bioéthanol de deuxième génération

Le bioéthanol est produit à partir de matières qui ne peuvent pas être utilisées pour la consommation humaine, telles que les cultures lignocellulosiques dédiées (miscanthus, panic érigé, fétuque élevée, fibres de sorgho, fibres de maïs, mélange « pied-de-coq et trèfle », etc.) **(Fig. II. 4.)**

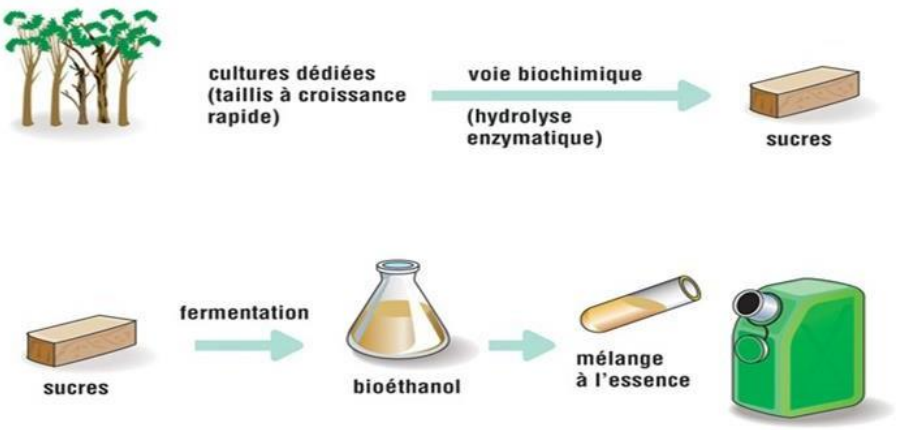


Fig. II. 4. La production de bioéthanol à partir de deuxième génération [43].

La production d'éthanol cellulosique fait actuellement l'objet de nombreuses recherches. Cette voie reste prometteuse en raison de la disponibilité des matières premières ainsi que de la possibilité de fermenter la plante entière en une seule fois **[44]** (**Tableau II. 2).** L'efficacité énergétique dépend également de la teneur en biomasse des principaux composés constituants (cellulose, hémicellulose, lignine et cendres) et du processus de production de bioéthanol de deuxième génération utilisé.

Tableau II. 2. Le bioéthanol de deuxième génération [41]

Bioéthanol de deuxième génération	
Source de matières premières	Culture non comestible (résidus agricoles et forestiers)
Technologie de conversion	Prétraitement, hydrolyse, fermentation et distillation
Rendement en bioéthanol	Moyen
Impact sur l'environnement	Contribution élevée à l'atténuation de CO_2

a). Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus agricole

Les résidus de biomasse agricole est une source qui nécessite beaucoup d'énergie pour le prétraitement.décrit la principale biomasse agricole (EU) dont les résidus peuvent être valorisés en bioénergies.

Tableau II. 3. Évolution des rendements des ressources agricoles [45].

t/ha	2010	2020	2030	2040	2050
Betterave	96.0	101.7	107.7	113.0	118.6
Grains de maïs	9.3	10.4	11.6	12.8	14
Blé tendre	7.5	7.7	8	8.2	8.4
Triticale	5.2	5.7	6.1	6.6	7
Colza	3.3	3.5	3.7	3.8	4
Switchgrass	12	12	12	12	12
Miscanthus	14	14	14	14	14

Les rendements des ressources agricoles sont en hausse **(tableau II. 3)**; ceci encourage la perspective d'utiliser les résidus d'agriculture dans la production de bioéthanol de deuxième génération

b). Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus forestiers

La biomasse forestière représente une source d'énergie prometteuse permettant d'obtenir des combustibles solides (bûches, granulés), des combustibles liquides (bioéthanol et biodiésel) et des combustibles gazeux (biogaz). Ces produits remplaceraient avantageusement les combustibles issus du pétrole **[46].**

c). Le bioéthanol de la deuxième génération à partir de biomasse lignocellulosique

L'éthanol peut aussi être produit à partir de matière lignocellulosique, comme le bois, la paille, les herbacées, etc. Contrairement à l'amidon ou au saccharose qui servent de réserves d'énergie pour la plante en vue d'une utilisation ultérieure **[44].** Le terme "lignocellulosique" couvre une gamme de molécules végétales/biomasse contenant de la cellulose, avec des quantités variables de lignine, ainsi qu'une longueur de chaîne et un degré de polymérisation différents. Les matériaux lignocellulosiques ont le potentiel d'être utilisés comme matière première pour la production d'éthanol cellulosique (par conversion biochimique la matière lignocellulosique sert de structure pour les plantes **[44].** Elle est le constituant principal de la paroi cellulaire des plantes. Elle est aussi la source de carbone renouvelable la plus abondante de la planète **[44].** Il s'agit donc d'une matière stable et résistante aux agents extérieurs et donc plus difficile à dégrader. Elle est composée principalement de lignines qui sont des composés

polyphénoliques inutilisables par la levure, de cellulose et d'hémicelluloses qui sont des composés poly-osidiques **[44].** Ces trois macromolécules s'entremêlent et forment une structure tridimensionnelle complexe et très résistante, maintenue par des liaisons hydrogènes et des liaisons covalentes, qui résistent aux attaques de phytopathogènes et qui confèrent de la rigidité aux plantes **[44].**

Comme pour l'amidon, la cellulose et les hémicelluloses doivent être hydrolysées avant utilisation par la levure car elle n'a pas le pool enzymatique nécessaire pour cela. Les procédés d'hydrolyse ressemblent à ceux employés pour l'amidon, ils emploient soit un traitement acide soit un traitement enzymatique **(figure. II. 5).** Le premier est certes peu cher mais il produit des inhibiteurs de fermentation et a un faible rendement d'hydrolyse. Le traitement enzymatique à l'inverse, est onéreux à cause du coût de l'enzyme mais il est performant et ne produit pas d'inhibiteurs **[44].**

Les méthodes de prétraitement répondant à ces objectifs sont le prétraitement à l'acide dilué, l'explosion à la vapeur et la thermo-hydrolyse puisqu'elles permettent de satisfaire aux objectifs fixés tout en minimisant la formation de composés de dégradation des sucres. Des recherches doivent encore porter sur l'amélioration de l'activité des enzymes, les cellulases, afin de réduire le coût de l'hydrolyse enzymatique. Un autre procédé concerne la fermentation alcoolique des pentoses qui n'est toujours pas vraiment applicable à l'échelle industrielle. Ce dernier point impose de développer de nouvelles souches capables de démontrer des performances voisines de celles démontrées sur glucose par « *Saccharomyces cerevisiae* » **[47].**

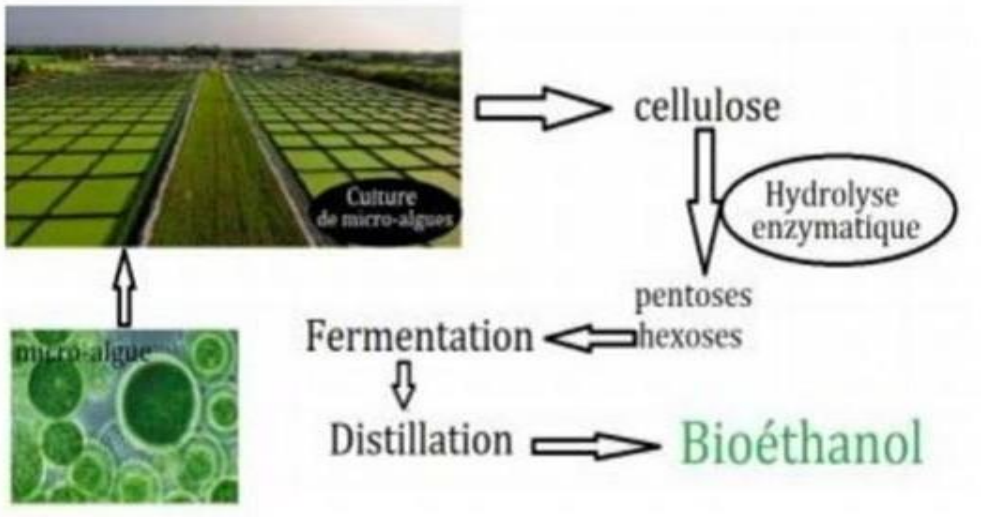


Fig. II. 5. Etapes de production de bioéthanol de troisième génération [48].

d). Bioéthanol produit à partir des plantes saccharifères

Il s'agit de plantes très riches en sucre ; cet ensemble peut être considéré comme un sous groupe des résidus agricoles. La canne à sucre est la plus utilisée au niveau mondial pour la production de bioéthanol. En 2010, l'éthanol de canne à sucre représentait un tiers de la production d'éthanol au niveau mondial **[44].** Les jus sucrés comme les mélasses sont directement fermentescibles en éthanol, sans avoir à procéder à des opérations préalables de saccharification. Les pulpes de betteraves sont utilisées en alimentation animale, comme une bonne partie des vinasses. Les bagasses de canne à sucre sont avant tout une source d'énergie renouvelable auxquelles les vinasses concentrées peuvent être ajoutées **[47].**

II. 4. 3. Bioéthanol de troisième génération

Le bioéthanol de troisième génération produit à partir de la biomasse de microalgues peut représenter un carburant respectueux de l'environnement Employant les algues comme matière première de bioéthanol peuvent être avantageuses, car les algues peuvent rapidement absorber le dioxyde de carbone, accumuler de fortes concentrations de lipides et de glucides, être facilement cultivées, et nécessitent moins de terrain que les plantes terrestres La culture des microalgues à l'échelle industrielle n'a pas besoin de terres arables.

II. 5. Projets de production du bioéthanol

II. 5. 1. A l'échelle mondiale

À l'heure actuelle, l'une des alternatives les plus prometteuses pour la remplacement l'essence est le bioéthanol, le plus grand biocarburant liquide produit au monde. Comme un carburant de transport, il peut être utilisé soit sous forme mélangée avec de l'essence, soit sous forme d'éthanol pur. Avec une production mondiale dépassant les 100 milliards litres en 2016, comme indiqué dans l'association des carburants renouvelables, l'éthanol devrait rester le biocarburant le plus important et le plus rentable **[49].**

Le bioéthanol est considéré comme le premier biocarburant au monde et son marché est en croissance continue . Le remplacement des carburants fossiles par le bioéthanol a été déjà établi et son utilisation est en augmentation au Brésil (canne à sucre) et aux États-Unis (maïs). Les États-Unis et le Brésil sont ensemble les principaux producteurs mondiaux d'éthanol **[49].** Ces deux régions produisent, à elles seules, plus de 86% de la production mondiale des biocarburants **(Figure. II. 6).** Ainsi, les Etats-Unis se fixent un objectif de 36 milliards de gallons (136,27 milliards de litres) de biocarburants, dont 79,5 milliards de litres provenant de carburants de nouvelle génération. En avril 2009, le Conseil Européen a adopté la Directive 2009/28/CE16 relativuee à la promotion et l'utilisation des énergies renouvelables, portant ainsi l'objectif de consommation d'énergie renouvelable dans le secteur des transports à 10%. Par

ailleurs, de nombreux pays prévoient d'accroître leur consommation de carburants renouvelables. D'après les projections faites par le FAO et l'OCDE, la production annuelle mondiale en 2020 devrait pratiquement doubler par rapport à la production de 2008 pour atteindre 196,87 milliards de litres **[50].**

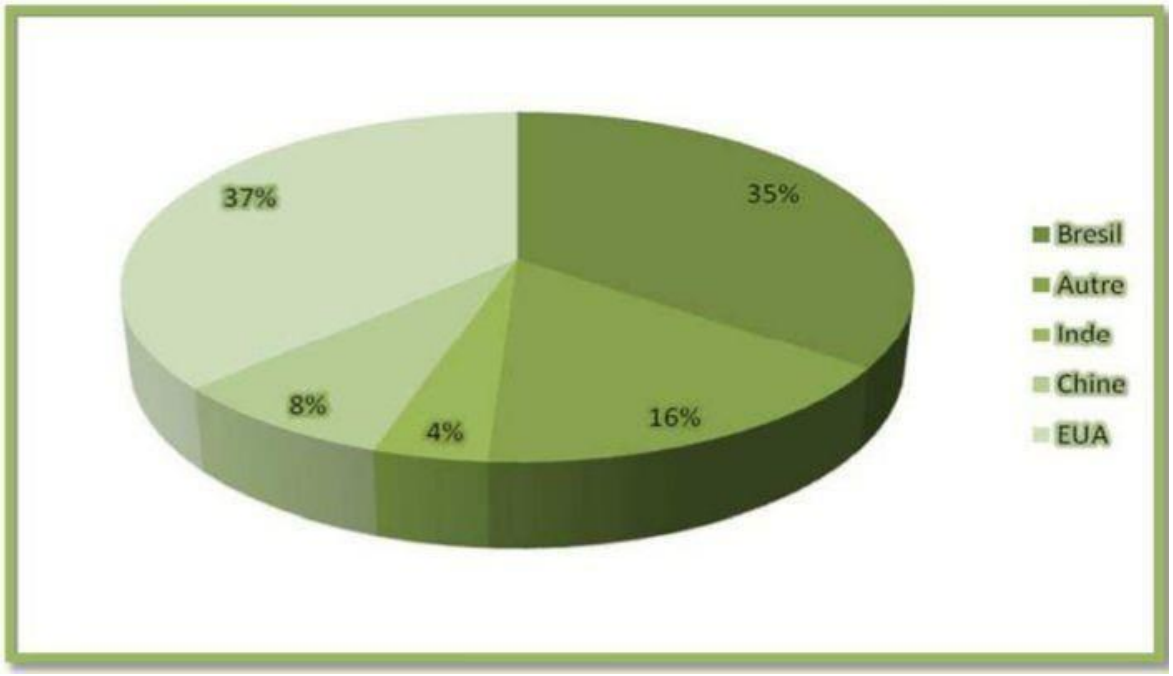


Fig. II. 6. Distribution de la production mondiale de bioéthanol (2006) [51].

II. 5. 2. A l'échelle continentale

L'Afrique pourrait devenir dans un futur proche un gros producteur de bioéthanol produit à partir de la canne à sucre mais également à partir du sorgho à sucre, de la cassave ou du maïs (ICDES, s.d.) Les opportunités de production de bioéthanol sur le continent africain tiennent à trois facteurs : premièrement la disponibilité de matières premières accompagnée de la possibilité d'augmenter la production de sucre (indispensable dans certains pays africains). Enfin, l'existence d'industries bien établies dans certains pays offre la possibilité de créer une filière bioéthanol **(tableau II. 4).** Des opportunités sont disponibles à la fois sur le marché intérieur et à l'exportation marchés **[52].** On compte actuellement au moins 11 pays africains qui créent des règles pour la production et la commercialisation du bioéthanol, en Afrique du Sud, en Angola et au Mozambique **[53].**

Tableau II. 4. Les principaux pays producteurs de bioethanol en afrique [54].

Pays	TB/jour	pourcentages
Zimbabwe	0.55	17%
Égypte	0.53	16%
Malawi	0.34	11%
Éthiopie	0.28	8%
Mozambique	0.08	2%
Nigéria	0	0%

II. 5. 3. Projets de production de bioéthanol à l'échelle nationale

A l'instar d'autres pays américains et européens qui ont développé des programmes industriels intégrés pour la production d'éthanol à partir de biomasse végétale, l'Algérie, possède un potentiel considérable en déchets et sous-produits de dattes ce qui pourrait lancer un pareil programme. La production d'éthanol à partir des déchets de dattes constitue une solution intéressante sur le plan économique. Cet alcool peut remplacer avantageusement celui obtenu par voie chimique à partir des produits pétroliers et peut remplacer le pétrole léger comme carburant. En outre, l'intérêt de produire de l'éthanol vient du fait que c'est une substance énergétique et son utilisation couvre un champ étendu d'activités industrielles : fabrication d'intermédiaires chimiques produits de beauté, parfums, cosmétiques, produits pharmaceutiques. de solvants, de détergents, etc. Enfin, il est utile de signaler, selon la Régie des Alcools, que notre pays importe entre 30 000 et 50 000 hectolitres d'alcool éthylique par an afin de couvrir ses différents besoins. En considérant les conditions climatiques, la disponibilité de la matière première, les exigences technologiques et la demande nationale en alcool, un programme expérimental au niveau des laboratoires et à l'échelle pilote a été entrepris et les résultats obtenus ont démontré la faisabilité du procédé aussi bien sur le plan technique qu'économique **[55].**

II. 6. Utilisation du bioéthanol

Le bioéthanol est utilisé dans différents domaines, comme :

- ✓ Solvant dans l'industrie des peintures, vernis, encres, matières plastiques, adhésifs, explosifs, parfums, cosmétiques, l'industrie pharmaceutique...
- ✓ Matière première pour la production de nombreux composés : acide acétique, acrylate d'éthyle, acétate d'éthyle, éthers de glycol, éthylamine, éthylène, éthers-oxydes notamment l'ETBE (éthyl-tert-butyl-éther)..

- ✓ Désinfectants, produit de protection (comme biocide, cf. § Réglementation).
- ✓ Composant de boissons alcoolisées

Il peut étre utilisé :

- ✓ À l'état pur comme carburant substitut à l'essence dérivée du pétrole ou bien en mélange à des niveaux de concentration variables. Les mélanges d'éthanol et d'essence sont identifiés par l'abréviation « Exx » ou « xx » indique le pourcentage d'éthanol inclus dans le mélange. Un carburant E20 contient donc 20% d'éthanol et 80% d'essence, alors qu'un carburant E100 correspond à de l'éthanol pur.
- ✓ Sous forme d'ETBE (Ethyl Tertio Butyl Ether), qui est formé par l'éthérification catalytique de l'isobutène avec de l'éthanol. Il contient 45% en masse d'éthanol combiné sous forme chimique. L'ETBE possède les mêmes avantages quel'éthanol en termes d'accroissement d'indice d'octane **[56].**

II. 7. Les avantages et les inconvénients de bioéthanol.

Le bioéthanol présente de nombreux avantages et inconvénients comme il est indiqué dans le Tableau II. 5.

Tableau II. 5. Avantages et inconvénients du bioéthanol [44] |57] [58] [59] [60].

Avantages	Inconvénients
Réduction de la dépendance étrangère à l'égard du carburant en réduisant la quantité totale de pétrole utilisée par substitution.	Biodiversité : une grande quantité de terres arables est nécessaire pour faire pousser des cultures. Cela pourrait voir certains habitats naturels détruits, y compris les forêts tropicales.
Utilisation flexible de 0 à 100%	Au cours du processus de production du bioéthanol, une énorme quantité de dioxyde de carbone est libérée, ce qui rend son efficacité écologique proche de zéro.
Toute plante peut être utilisée pour la production de bioéthanol à condition qu'elle contienne du sucre et de l'amidon.	La production de bioéthanol exige de solides connaissances techniques pour une production efficace.
Le carburant à base d'éthanol comme E10 (10% d'éthanol et 90% d'essence) réduit les gaz à effet de serre jusqu'à 3.9%.	Il peut affecter négativement les pompes à carburant électriques en augmentant l'usure interne et la génération d'étincelles indésirables.
Il est neutre en carbone, c'est-à-dire que le dioxyde de carbone libéré dans le processus de production de bioéthanol est le même que celui que les cultures ont précédemment absorbé lors des photosynthèses.	Concurrence entre alimentation et énergie.
Etant un additif oxygénant, et peut remplacer les additifs nocifs pour la santé humaine.	Corrosion des pièces en contact avec l'éthanol.

Indice d'octane* élevé permettant une meilleure efficacité des moteurs à explosions.	Faible économie de carburant (c'est-à-dire que vous obtenez moins de kilomètres au gallon).
Il agit comme un antigel dans les moteurs, améliorant le démarrage des moteurs à froid et empêchant le gel.	L'éthanol pur est également difficile à vaporiser, ce qui peut rendre difficile le démarrage d'une voiture par temps froid.
Il est neutre en carbone, c'est-à-dire que le dioxyde de carbone libéré dans le processus de production de bioéthanol est le même que celui que les cultures ont précédemment absorbé lors des photosynthèses.	Concurrence entre alimentation et énergie
Il provient de sources renouvelables et non de ressources finies.	Indice de cétane** faible ne permettant pas son utilisation dans les moteurs à combustion interne sans l'ajout d'un accélérateur d'ignition.
Effet net d'utilisation se traduisant par une diminution globale de l'appauvrissement de la couche d'ozone dans l'atmosphère finie.	Il est assez couteux de mettre en place un laboratoire de biocarburants.
Emissions de combustion moins dangereuse pour l'environnement.	Production de bioéthanol rempli l'air de gaz à effet de serre dans des quantités comparables aux émissions des moteurs à combustion interne.
Bilan énergétique positif selon le type de matière première, il peut varier de 1.24 à 8. La sortie d'énergie pendant la production est supérieure à l'entrée (controversé).	Contenu énergétique d'essence est bien supérieur à celui du bioéthanol. En d'autres termes, le bioéthanol n'est pas aussi efficace que le pétrole. Son contenu énergétique est de 70% de celui de l'essence.

Chapitre III : Fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae*

III. 1. Généralités sur la levure *Saccharomyces cerevisiae*

C'est une levure utilisée depuis l'Antiquité par les Égyptiens, les Babyloniens ainsi que les Celtes pour produire des boissons fermentées, du pain, du kéfir, du vin et de la bière. Elle a été découverte, isolée et identifiée au milieu du XIX^{ème} siècle par des brasseurs néerlandais à la demande de boulangers parisiens qui commençaient à industrialiser leur production et cherchaient un processus de fermentation plus fiable et plus rapide pour fabriquer leur pain **[61].**

Saccharomyces vient du mot « saccharose » qui signifie sucre, « *myces* » qui signifie champignon. Tandis que *cerevisiae* fait référence à « cervoise », nom donné autrefois à la bière, c'est un terme scientifique utilisé pour désigner le petit champignon microscopique qui compose les différentes sortes de levures utilisées pour la fermentation **[62].** Elle est littéralement connue comme levure du sucre. Elle est également, appelée levure de bière ou de boulanger **[63].**

La levure bourgeonnante est un organisme unicellulaire eucaryote appartenant au règne des champignons. Elle a fait l'objet d'études approfondies depuis plus de 80 ans, révélant des connaissances précieuses sur sa génétique, sa physiologie fonctionnelle et sa biologie moléculaire, ce qui en fait un organisme modèle dans divers domaines scientifiques et plus récemment, en biotechnologie **[63].**

III. 2. Classification

La classification de *S. cerevisiae* est la suivante **[64]**

Règne : Protiste

Embranchement : Eucaryote

Classe : Ascomycètes

Sous classe : Hem ascomycètes

Ordre : *Endomycetales*.

Famille : *Saccharomycetaceae.*

Sous famille : *Saccharomycetoideae*.

Genre : *Saccharomyces*.

Espèce : *Saccharomyces cerevisiae.*

III. 3. Morphologie et Cytologie

S. cerevisiae est une cellule sphérique, ovoïde ou allongée d'une taille très variable (3-10 µm à 4-14µm) **(fig. III. 1),** certaines cellules sont cylindriques et de grandes tailles jusqu'à 20 µm de longueur ou plus **[62].**

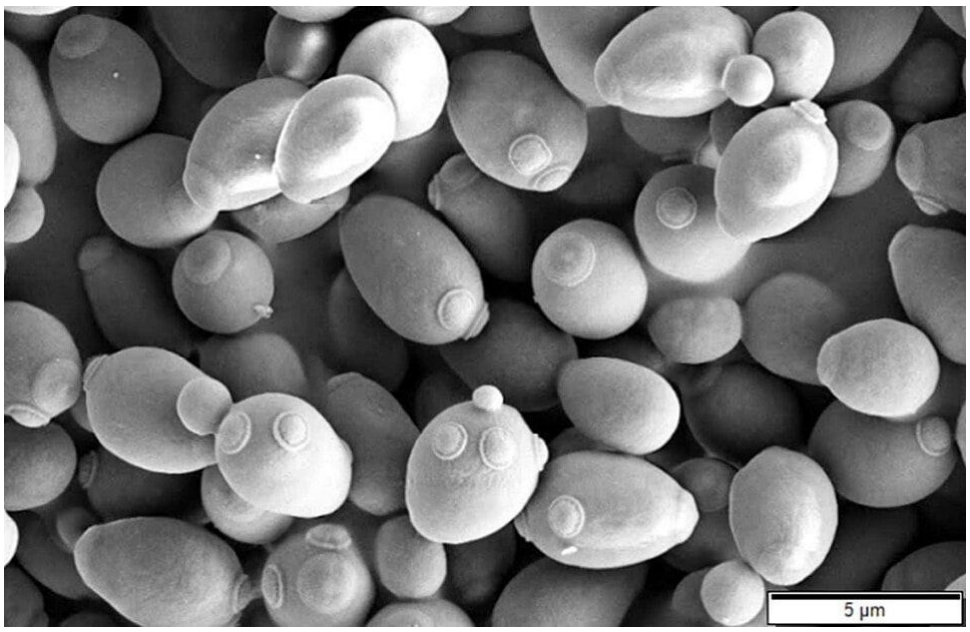


Fig. III. 1. Morphologie de Saccharomyces cerevisiae au MEB [65].

De Ses cellules possèdent **[66]** :

- **Une paroi cellulaire** externe qui protège la cellule de certaines agressions du milieu extérieur et permet la conservation **(fig. III. 2).**
- **Une membrane cellulaire** qui double la paroi cellulaire intérieurement et qui joue un rôle prépondérant dans les échanges de la cellule avec le milieu extérieur. La membrane cellulaire n'est pas continue car des pores, à certains endroits contrôlent les entrées et les sorties. Le transport est assuré par des enzymes type perméases.

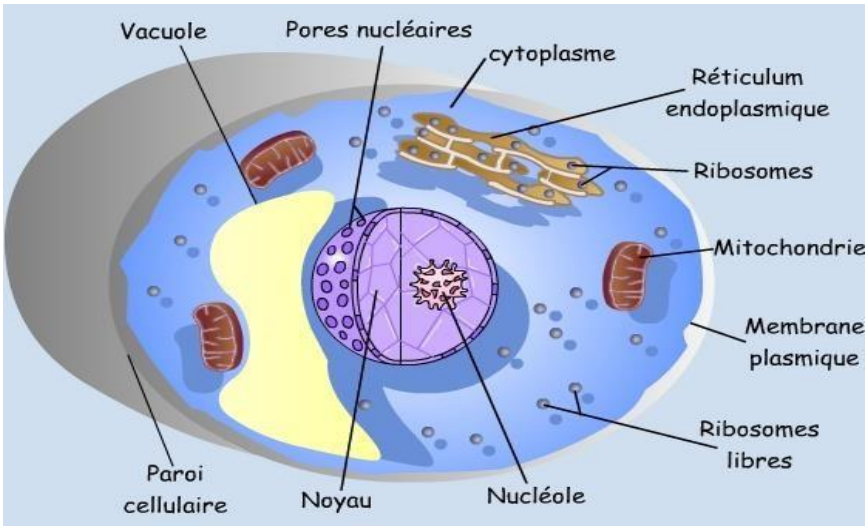


Fig. III. 2. Structure cellulaire de la levure [67].

- **Le cytoplasme** qui est le constituant intérieur de la cellule. Il renferme en suspension des éléments qui assurent la transformation des aliments : enzymes telles l'invertase, la maltase, des protéases…etc. La transformation-production est assurée par une chaîne métabolique de départ « la glycolyse » se déroulant dans le cytoplasme. On y trouve aussi des vacuoles contenant des réserves de tréhalose et des mitochondries qui sont les centres de respiration de la cellule et aussi des ribosomes qui assurent la synthèse des protéines.
- **Le noyau** qui organise rigoureusement l'activité générale de la cellule. Il contient l'ADN, qui porte les gènes caractérisant précisément les qualités spécifiques d'une levure par rapport à une autre. C'est par ce noyau qu'est assurée la reproduction de la cellule. Les levures sont des organismes eucaryotes. Le noyau des cellules contient 16 chromosomes linéaires **[66].**

III. 4. Caractéristiques biochimiques

L'étude des caractéristiques biochimiques permettent de définir l'espèce de la levure à l'intérieur d'un genre. L'identification est basée essentiellement sur l'aptitude de la levure à fermenter les sucres en éthanol et en dioxyde de carbone (CO_2), et à assimiler des sources carbonés et azotés **[68].** Les caractéristiques biochimiques de la levure *S. cerevisiae* sont représentées dans le **(tableau III.1)**

Tableau III. 1. Caractéristiques biochimiques de *S. cerevisiae* [69].

Fermentation		**Sources de carbone**		**Source d'azote**	
Glucose	+	Glucose	+	Nitrate	-
Galactose	+	Galactose	+	Nitrite	-
Saccharose	+	Saccharose	+	Créatinine	-
Maltose	+	Maltose	+	créatine	-
Raffinose	+	Raffinose	+	L-lysine	-
Tréhalose	-	Tréhalose	-	Imidazole	-
Cellobiose	-	Cellobiose	-	Glucosamine	+
Melibiose	-	Melibiose	-	Cadavérine	-
Lactose	-	Lactose	-	Ethylamine	-
Xylose	-	Xylose	-		

III. 5. Reproduction

Le cycle cellulaire de la levure *S. cerevisiae* comprend deux modes de reproduction **(Fig. III. 4).** Le premier est la reproduction asexuée qui s'effectue principalement par bourgeonnement. C'est un processus par lequel une cellule mère donne naissance à une autre cellule fille essentiellement identique. Tandis que le second est la transition (du nombre de chromosomes)par la reproduction sexuée. Lors de cette transition, les cellules haploïdes de sexe opposé se conjuguent pour former des cellules diploïdes. Les cellules diploïdes sporulent pour former des cellules haploïdes **[70].**

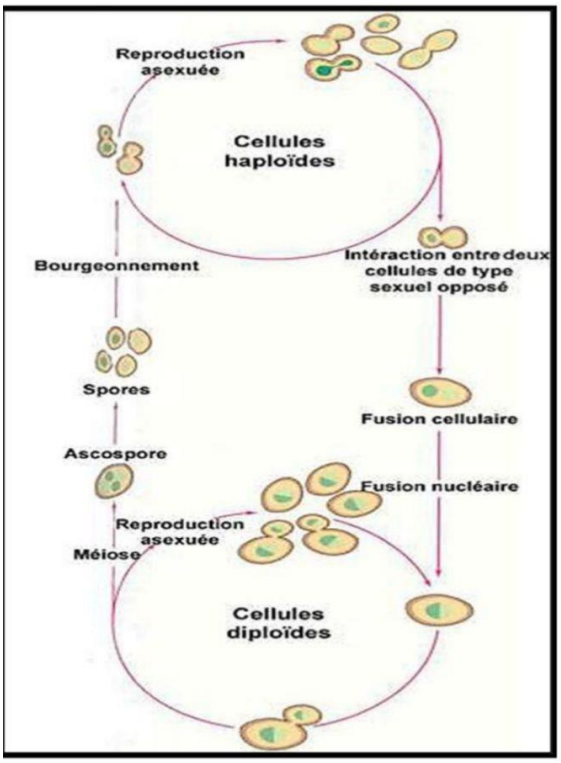


Fig. III. 3. Représentation schématique du cycle cellulaire de *S. cerevisiae* [70].

III. 5. 1. Reproduction par bourgeonnement

Dans les cuves de fermentation, la multiplication de la levure se fait par bourgeonnement (reproduction asexuée). Les constituants de la cellule se dédoublent pour former un bourgeon qui augmente progressivement de volume. Le noyau se divise et le noyau fils migre dans l'excroissance (bourgeon). Le bourgeon arrivé à maturité se détache. Ainsi d'une cellule initiale, il résulte deux cellules identiques. A leur tour, chacune des deux cellules génère d'autres cellules et ainsi de suite, tant que les conditions du milieu restent satisfaisantes **[71].**

III. 5. 2. Reproduction sexuée

Dans d'autres conditions, la cellule de levure forme des spores haploïdes. Après différenciation et méiose un asque à 4 ascospores haploïdes se forme. Les spores sont très résistantes et peuvent être considérées comme des formes de survie de la levure (on a découvert des spores intactes, dans la banquise polaire, dont l'origine pourrait remonter au-delà de 100.000 années). Lorsque les conditions du milieu redeviennent favorables, les spores fusionnent et reconstituent la cellule. Les levuriers mettent à profit ces deux modes de reproduction pour la fabrication de la levure et la création de nouvelles souches plus élaborées **[71].**

III. 6. Condition de culture de la levure *S. cerevisiae*

La croissance d'un microorganisme peut être considérée comme une série d'interaction entre les cellules et leur environnent **[72].**

III. 6. 1. Besoins physico –chimique

- ✓ **Le pH**, *S. cerevisiae* présente l'avantage de croitre sur un milieu acide, pour lequel la plupart des bactéries ne se développent pas elle préfère un pH compris entre 4- 4,5 **[73].**
- ✓ **La température,** la température de croissance est viable suivant les espèces de levures. La température convenable pour la levure *S. cerevisiae* est entre 25°C et 35°C. Ce sont des mésophiles **[74].**
- ✓ **L'aération,** la levure s'adapte à deux modes de vie en présence et en absence d'oxygène, et pour le but d'homogénéiser la circulation dans le fermenteur il est nécessaire d'adapter d'oxygène sous forme d'aire filtré par couton **[73].**
- ✓ **La pression osmotique,** la levure *S. cerevisiae* est une espèce osmophile qui se développe sur des milieux à forte concentration en sucres et en sel mais avec un métabolisme lent au contraire de certaines espèces **[75].**
- ✓ **L'hydratation,** l'eau facilite l'activité de la levure en améliorant la mobilité des cellules de levure, en dissolvant les constituants fermentescibles et en assurant le contact entre les enzymes et les substrats **[73].**
- ✓ **La concentration en alcool,** l'augmentation de la concentration en alcool au cours de de la fermentation freine progressivement l'activité des levures **[76].**

III. 6. 2. Besoins nutritionnels

Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires aux systèmes cellulaires et aux besoins énergétiques de la levure.

- ✓ **L'eau,** la souche *S. cerevesiae* utilise les glucides simple (hexoses) et des disaccharides mais elle est incapable d'utilisé les pentoses.
- ✓ **L'azote,** toutes les levures sont capables d'utilisé l'azote sous forme d'ions d'ammonium et l'urée pour constituer des protéines ; acide nucléique et des vitamines **[77].**
- ✓ **Les sels minéraux**

Potassium, est l'élément minéral quantitativement le plus important pour la levure **[72].**

Phosphore, se trouve inclus dans les acides nucléiques et les nucléosides, la concentration en ion phosphate (PO_4^{3-}) régule la synthèse des lipides et des glucides **[72].**

Soufre, 60 % du soufre est incorpore dons les protéines et sous forme d'inorganique libre. Les levures *Saccharomyces* sont également capables d'utiliser le sulfite et le thiosulfate **[72].**

Magnésium, est nécessaire au bon fonctionne d'une certaine d'enzyme de métabolisme **[72].**

Calcium, est indispensable à la croissance mais joue un rôle de stimulateur chez *S. cerevisiae* **[72].**

- ✓ **Les micronutriments :** sont nécessaire à l'état de trace, de l'ordre du mg/l du milieu de culture mais sont indispensable pour la levure. Il joue, également, un rôle dans l'activation de certaines réactions enzymatiques ainsi dans la construction de certaines vitamines et coenzymes **[76].**
- ✓ **Les vitamines,** l'apporte de vitamine est indisponible pour assurer une bonne croissance et une meilleur activité fermentaire de la levure *S. cerevisiae.* Les besoins en biotine sont de l'ordre de 1 mg/L, la quantité nécessaire en vitamines B6 est de 6.25 mg/L **[76].**

III. 7. Fermentation alcoolique

III. 7. 1. Définition de la fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique, est un procédé biologique par lequel le sucre est converti en alcool et en dioxyde de carbone. Les levures sont responsables de ce processus et l'oxygène n'est pas nécessaire, ce qui signifie que la fermentation alcoolique est un procédé anaérobie. Les sous-produits du processus de fermentation comprennent la chaleur, le dioxyde de carbone, l'eau et l'alcool **[78].** Plusieurs changements sont susceptibles d'apparaitre : un dégagement de gaz carbonique, une augmentation de la température et de la couleur, un changement d'odeur et de saveur, une diminution de la densité (transformation du sucre en alcool) et une augmentation des volumes **[79].** L'équation globale de la fermentation alcoolique est **[80] :**

$$C_6H_{12}O_6 + 2\ ADP + 2\ Pi \rightarrow 2\ C_2H_5OH + 2CO_2 + 2\ ATP$$

III. 7. 2. Les différents types de culture

Il est possible d'effectuer les fermentations en mode discontinu (Batch), en mode semi continu (Fed-batch) ou en mode continu **[81].**

III. 7. 2. 1. Le mode discontinu ou Batch

L'éthanol peut être fabriqué en utilisant des procédés discontinus, aussi appelés le procédé en batch, dans des bioréacteurs de grands volumes, de l'ordre de 500 m^3. Les cultures discontinues sont des installations fermées en phase liquide. Normalement, aucun élément n'est ajouté au milieu et la récolte se développe jusqu'à ce qu'il manque au moins un nutriment essentiel ou jusqu'à ce qu'un changement environnemental important (pH, accumulation de produits toxiques…) bloque la croissance. Cependant, il est possible de contrôler le milieu de fermentation en régulant par exemple le pH ou le niveau de mousse, le système n'est donc pas totalement clos. Ces types de cultures ne présentent pas de rendements constants tout au long du procédé car la composition du milieu évolue au cours de la fermentation. Les cultures en discontinu imposent des temps morts lors du remplissage et de la vidange des cuves. De plus, le système doit être stérilisé entre chaque fermentation **[82].**

III. 7. 2. 2. Le mode semi-continu ou Fed-batch

Le fed-batch (de l'anglais to feed, pour alimenter), est le mode de culture le plus couramment utilisé industriellement. La fermentation est démarrée en discontinu puis la source de carbone et éléments nutritifs sont ajoutés par intermittence ou de façon continue sans soutirer de milieu entrainant une augmentation du volume dans la cuve au fil du temps.

Le bouillon de culture est récolté généralement uniquement à la fin de la période d'exploitation, que ce soit entièrement ou partiellement (le reste servant d'inoculum pour la prochaine production) **[83].**

III. 7. 2. 3. Le mode continu

Il s'agit de cultures cultivées dans des réacteurs de type chémostat pour les plus simples en régime stationnaire (entrée = sortie par unité de temps). La concentration de biomasse et la productivité obtenues sont plus faibles que pour les cultures de type fed-batch vues précédemment, elles se rapprochent de celles de type batch. La source de carbone et d'autres substances nutritives sont ajoutées en continu en soutirant le milieu contenant donc les cellules, les métabolites et le substrat résiduel **[83].**

III. 7. 3. Procédé de la fermentation alcoolique

Après ensemencement du milieu par la levure de boulanger *S. cerevisiae* en quantité de 1g/l, le bioréacteur est plongé dans un bain-marie où la température est maintenue à 30 ±

2°C et de pH entre 4.2 et 4.5. La fermentation est effectuée par voie anaérobique pendant 72 heures **(Fig. III. 4).** Toutefois, la fermentation est favorisée par l'agitation provoquée par le mouvement des bulles de CO_2 libérées **[84].** Pour suivre l'évolution de la fermentation, des prélèvements sont effectués chaque 24 heures pour déterminer la teneur en alcool par l'alcoomètre et détecter l'odeur de l'alcool dans le moût. Après 72 heures, la fermentation est arrêtée **[84].** La fermentation se déroule en milieu non renouvelable en mode discontinue. La croissance de *S. cerevisiae* peut être limitée par l'accumulation de substances toxiques. Il faut noter que les acides gras (acide octanoïque, acide décanoïque), formés par la levure deviennent toxiques à elle. Pour remédier à ce phénomène, une pincée de charbon est ajoutée aux moûts avant ensemencement pour faciliter la reprise de la fermentation **[85].**

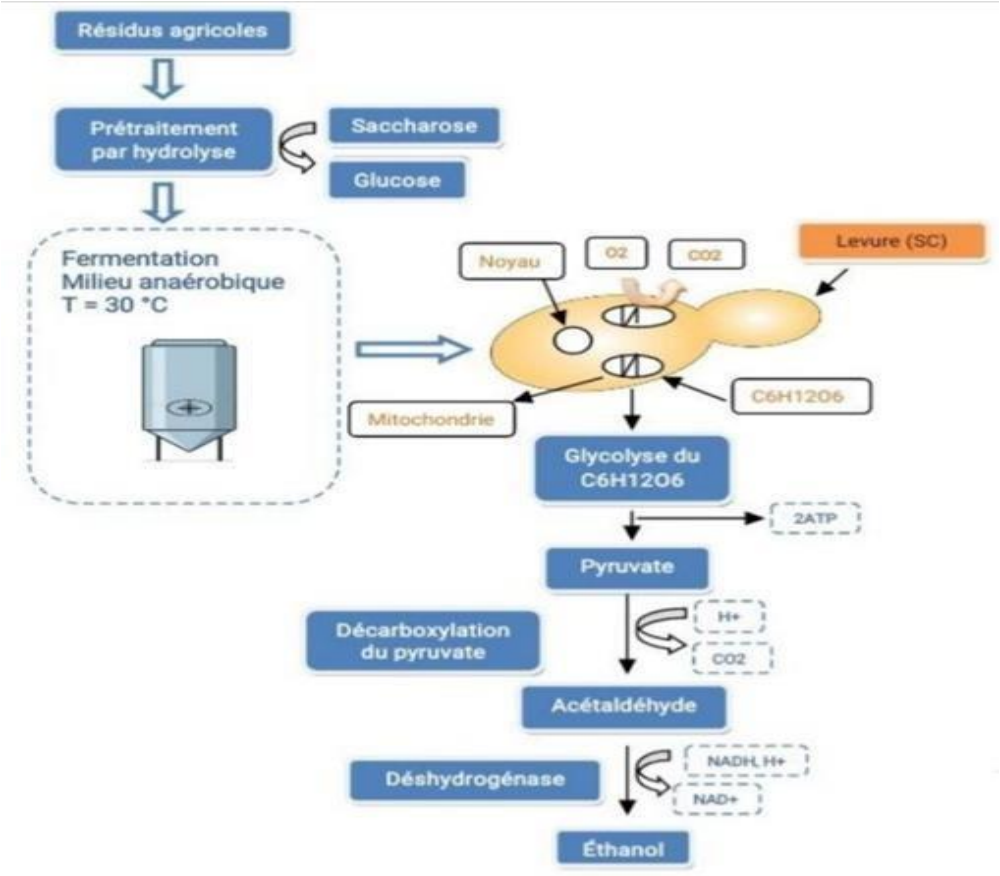


Fig. III. 4 : Principe de la fermentation alcoolique du glucose par la levure *S. cerevisiae* [86].

III. 7. 4. Paramètres de fermentation

La température et le pH sont des paramètres importants. La température optimale pour la levure *S. cerevisiae* est de 30 à 35°C. Au-delà de 38°C et en dessous de 30°C, les rendements diminuent. De plus, la fermentation étant exothermique (1.2 MJ/kg d'éthanol produit), la température peut devenir un problème pour les grandes installations et les hautes températures augmentent le caractère inhibiteur de l'éthanol. *S. cerevisiae* peut fermenter à un pH minimum de 3.5. Toutefois, un pH supérieur à 5 est optimal, en réduisant la durée de la phase de latence et en favorisant le développement optimal de la levure. Cela est particulièrement vrai étant donné que le milieu de fermentation contient des espèces inhibitrices. Cette situation est rencontrée dans la fabrication de l'éthanol de deuxième génération, il est primordial d'utiliser des gammes de températures et de pH optimales **[81].**

III. 7 .5. Techniques de fermentation alcoolique

a). Fermentation et hydrolyse séparées

Le mécanisme **(Figure. III. 5)** fondé sur la base de la séparation de l'hydrolyse et la fermentation en deux processus distincts comme dans le processus de production de bioéthanol normal, l'hydrolyse sera effectuée d'abord pour dégrader les sucres de manomètre issue du matériau de charge par l'utilisation, suivie de la réaction de fermentation qui augmentera les sucres dans la phase d'hydrolyse. Un problème majeur associé au processus [SHF (hydrolyse et fermentation séparées)] est l'inhibition du produit final par des sucres qui se forment lors de l'hydrolyse **[85].**

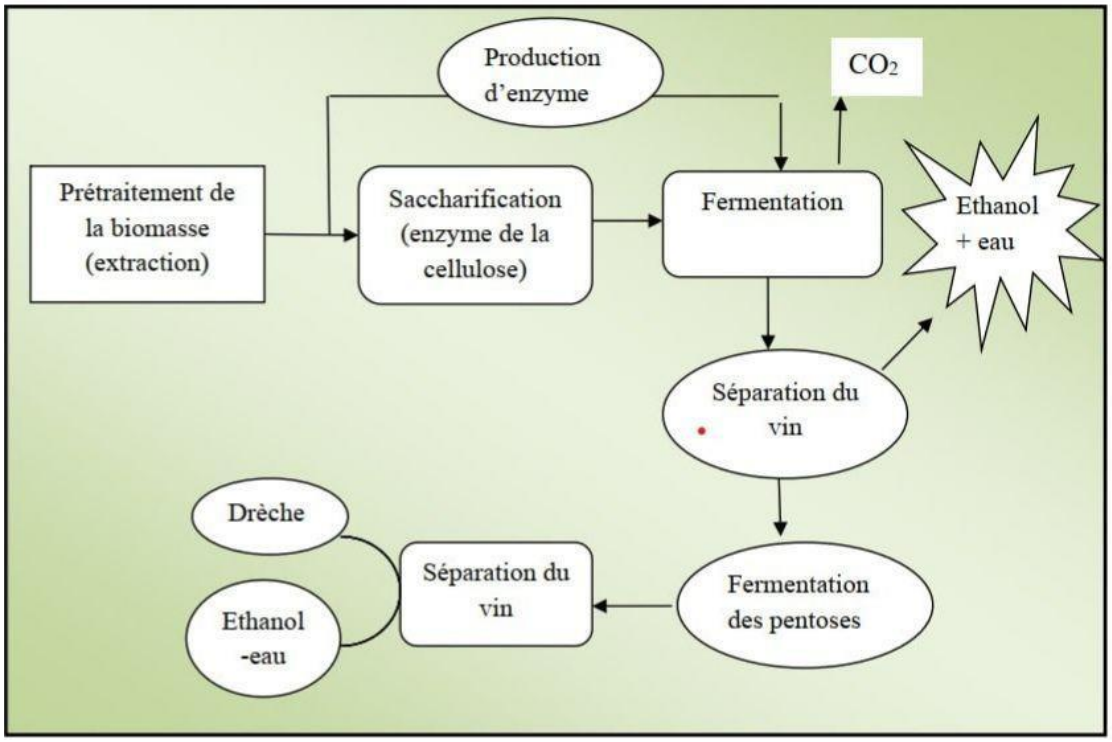


Fig. III. 5. Technique de fermentation et hydrolyse séparées pour la biomasse lignocellulosique [86].

b). La saccharification et fermentation simultanée (SFS)

Ce procédé nécessite la présence d'enzymes pour l'hydrolyse (cellulases) et de celles pour la fermentation. Ce procédé est appelé conversion microbienne directe. Il consiste à réunir en une seule étape la production de cellulase, l'hydrolyse enzymatique de la cellulose et la fermentation du glucose **(Figure. III. 6).** L'un des problèmes est l'obtention d'un rendement en bioéthanol faible causé par la faible tolérance des microorganismes au bioéthanol. A l'issue de la fermentation, le bioéthanol est formé en mélange avec de l'eau ainsi que d'autres sous-produits de fermentation. Il est donc nécessaire d'isoler le bioéthanol des autres molécules pour obtenir une concentration élevée. Pour isoler un produit plus volatile que l'eau, la distillation est une solution efficace. A la sortie de la colonne de distillation, le bioéthanol est concentré à 37%. Celui-ci est ensuite à nouveau concentré dans une colonne rectifiant à un pourcentage légèrement inférieure à l'azéotrope (95%). D'autres étapes de distillation sont encore réalisées pour atteindre une concentration en bioéthanol de 99,6% **[87].**

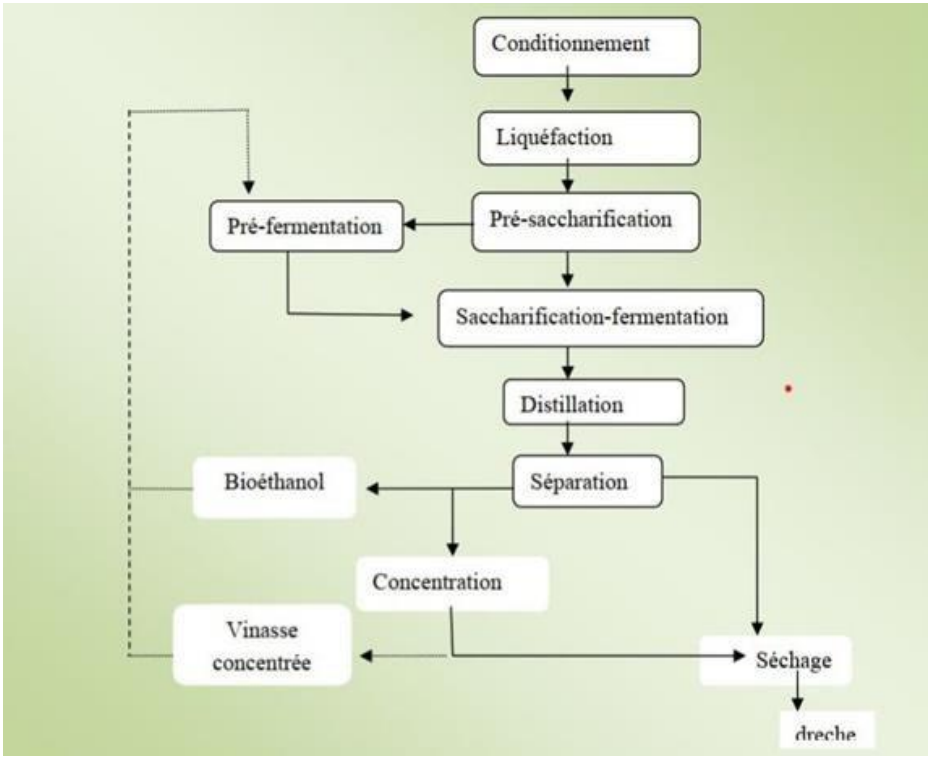


Fig. III. 6. Saccharification et fermentation simultanées (SFS) [88].

c). Distillation du mélange eau-éthanol (purification)

Le procédé de distillation **(Fig. III. 7)** est conçu pour la production d'alcool hydraté à 96%, à partir de bière fermentée. Le système se compose de 3 colonnes, à savoir deux colonnes de concentration, et une colonne de rectification. Les deux colonnes de concentration, dont la première opère sous vide, et l'autre en légère surpression, fonctionnent en parallèle. La vapeur d'alcool sortant des colonnes de concentration est alors condensée, puis acheminée, via un préchauffeur, vers la colonne de rectification où l'alcool est concentré jusqu'à 96%. L'alcool est à nouveau condensé, puis refroidi et enfin stocké dans un réservoir, dans l'attente de son transport vers l'unité de déshydratation. Là on va déshydrater le bioéthanol obtenu (96%) en le faisant passer à travers un tamis moléculaire de (silicoaluminate métallique) pour améliorer son rendement de 96% à 99,9% (éthanol anhydre) **[87].**

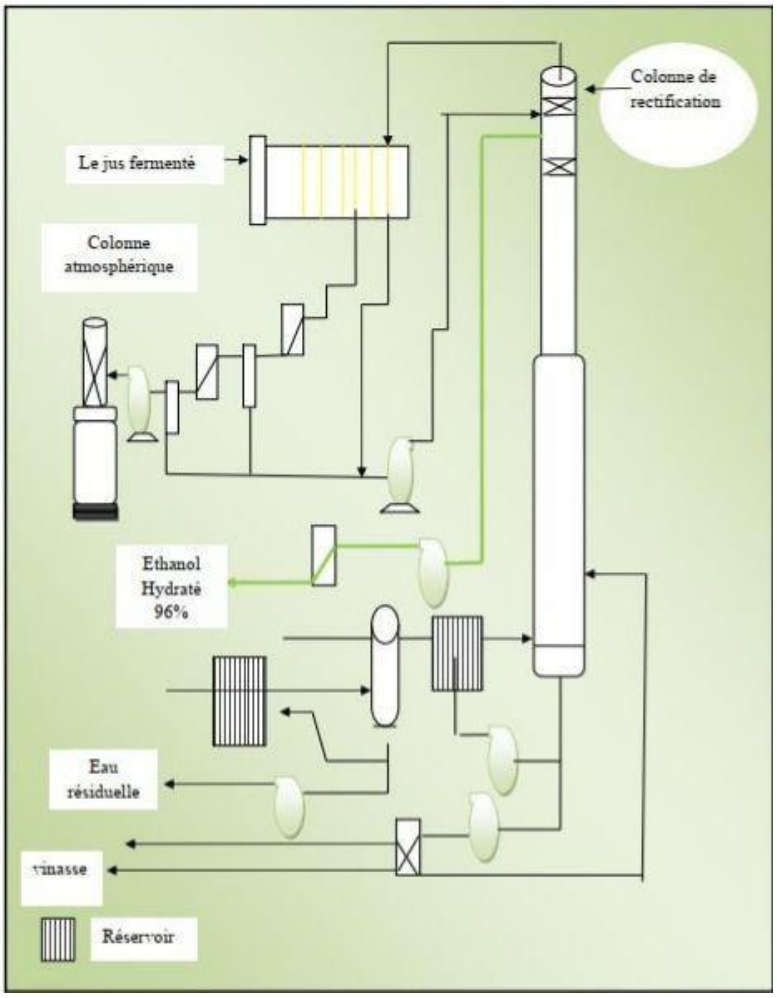


Fig. III. 7. Schéma du procédé de distillation-rectification d'un jus fermenté [89].

d). Obtention de biomolécules à grande valeur ajoutée

Le saccharose peut être utilisé comme substrat de fermentation pour produire de l'alcool éthylique ou de l'alcool butylique, de la glycérine ou de l'acide citrique. Le saccharose peut également être converti en esters et éthers, desquels on peut extraire des résines dures et solides. La mélasse permet aussi de produire de l'alcool, utilisé comme spiritueux ou en médecine et aussi dans la fabrication de parfums. L'acide lactique est produit par fermentation bactérienne du saccharose. A partir d'acide lactique, il est possible de synthétiser des sels et des esters **[90].**

Partie expérimentale

Ce travail intéressant s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche portant sur la production de bioéthanol à partir de biomasse. Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biotechnologie de l'université Yahia Farès de Médéa, campus Ouezra.

L'objectif de ce travail est de :

- Suivre l'évolution du pH, de la densité optique de la biomasse, la concentration des sucres réducteurs ainsi que la concentration des sucres totaux dans le milieu de fermentation.
- Déterminer les conditions optimales de la production du bioéthanol à partir du pain moisi en faisant varier les différents facteurs tel que la quantité de levure, la quantité du pain moisi ainsi que le temps de fermentation.

IV. 1. Matériels et produits chimiques

Le matériel et les produits chimiques utilisés lors de la réalisation nos travaux de recherche sont présentés dans (**le tableau IV. 1).**

Tableau IV. 1. Matériel et produits chimique utilisés

Appareillage	Verreries	Produits chimiques
Bec bunsen, pH mètre « Hanna », Balance « Sartorius », Autoclave « Memmert », Bain-marie « Memmert », Chauffe ballon Agitateur Secoueur « Memmert », Spectrophotomètre (UV-Visible) « UV mini 1240-SHIMADZU », Centrifugeuse « EBA20 », Incubateur Thermomètre, Chronomètre Composants du montage de distillation (ballons, coudes en verre, réfrigérant …), Réfractomètre.	Béchers, Erlenmeyers, Fioles jaugées, Pipettes, Poire, Eprouvettes, Tubes à essaies, Micropipettes, Spatules, Barreaux magnétiques, Cristallisoirs, Verre de montre Pipette pasteur.	Solutions d'amidon, Chlorure d'ammonium (NH_4Cl), Phosphate mono potassique (KH_2PO_4), Sulfate de magnésium 7 hydraté ($MgSO_4.7H_2O$), Extrait de levure, Acide chlorhydrique HCl pur et solution d'HCl (0,1N), Cu Cl_2, $2H_2O$, $ZnSO_4$,$7H_2O$, $MnSO_4$, $4H_2O$ $CuSO_4$, $5H_2O$, Glucose, NAOH, Acide Sulfurique Phénol à 5 %, Iode(I_2) Iodure de potassium (KI)

IV. 2. Matériels Biologique

IV. 2. 1. La levure

La levure utilisée au cours des expériences de production d'éthanol est *Saccharomyces cerevisiae* (**fig. IV. 1**) (marque Saf-instant).



fig. IV. 1. Levure *Saccharomyces Cerevisiae*.

IV. 2. 2. La biomasse

Nous avons choisi pour cette étude le déchet de pain sous sa forme moisi **(fig. IV. 2).** Le choix du déchet de pain est justifié par son abondance à l'échelle nationale. La forme moisie du pain est riche en quantités considérables d'amidon valorisable en alcool par fermentation, après sa décomposition en sucres simples assimilables par la levure grâce à la fermentation solide.



Fig. IV. 2. Biomasse utilisée (pain moisi)

IV. 3. Caractérisation du pain moisi

L'objectif de cette étude est de comprendre l'effet de la moisissure sur les composants nutritionnels du pain, en particulier le taux d'humidité, la matière sèche, et les sucres (totaux et réducteurs). Cette analyse constitue une étape essentielle pour évaluer la possibilité d'utiliser le pain

moisi comme matière première pour la production de bioéthanol, un type de carburant alternatif issu de matières organiques biodégradables.

IV. 3. 1. Isolement de quelques souches du pain moisi

Une identification en utilisant la coloration simple au bleu de méthylène été réalisée. Les souches sélectionnées, en fonction de la coloration, sont ensemencées sur le milieu PDA, et incubée à température ambiante pendant 48 à 96 h.

Mode opératoire

- Couper un morceau de ruban adhésif de 1,5 cm de long en évitant absolument de laisser ses empreintes sur la face adhésive.
- Appliquer la face adhésive sur la colonie de moisissures.
- Poser une goutte de bleu de méthylène sur une lame propre
- Poser le morceau de ruban sur la goutte et faites l'observation.

L'identification des souches fongiques sélectionnées est basée, non seulement sur les observations macroscopiques du mycélium fongique qui permet de déterminer l'aspect extérieur des colonies, mais également sur l'observation microscopique à l'aide d'une coloration simple au bleu de méthylène. Les résultats obtenus sont présentés dans **(fig. IV. 1).**

IV. 3. 2. Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité

✓ Peser 10 g de pain moisi dans un verre de montre **(fig. IV. 3).**



Fig. IV. 3. Détermination de l'humidité (pain moisi)

✓ Mettre à l'étuve à température 105°C.

✓ Pesez la masse du pain jusqu'à la stabilisation de la masse.

Le taux humidité est déterminé selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{(M1-M2)}{M1} * 100$$

H% : Humidité en %.

M_1 : Masse de la matière avant étuvage.

M_2 : Masse de la matière après étuvage.

La teneur de la matière sèche est calculée comme suit :

$$\text{Matière sèche } \% = 100 - H\%$$

IV. 3. 3. Dosage des sucres dans le pain moisi

a). Attaque acide du pain moisi

Le dosage des sucres réducteurs et des sucres totaux dans le pain, doit être précédé par une hydrolyse où les liaisons chimiques sont rompues par l'eau en présence d'un acide, comme l'acide chlorhydrique (HCl). Dans ce contexte, l'hydrolyse acide du pain impliquerait la dégradation des composants du pain, tels que les glucides, en sucres simples, qui va nous permettre de doser les sucres totaux ainsi que les sucres réducteurs dans le pain.

Mode opératoire

- Préparer une solution d'HCl 2 mol/l.
- Mélanger 75ml de cette solution d'HCl avec 10g de pain moisi (2 échantillons : le pain moisi humide **(fig. IV. 3)** et le pain moisi après séchage).
- Faire la stérilisation dans autoclave 120°C pendant 15 min.
- Neutraliser avec NaOH 40% jusqu'à pH 7.
- Mesurer le volume après neutralisation
- Faire la centrifugation.
- Faire une dilution appropriée (1/200 à 1/250) afin de doser les sucres totaux et les sucres réducteurs

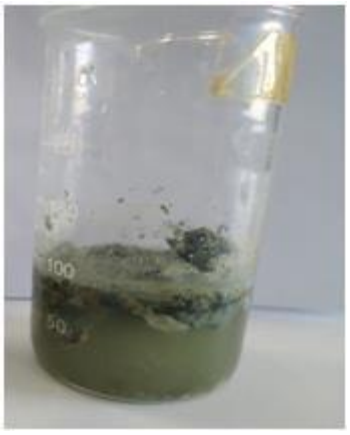


Fig. IV. 4. Aspect du pain moisi après hydrolyse

b). Dosage des sucres totaux de l'hydrolysat du pain moisi par la méthode de Dubois

- Introduire 1ml d'hydrolysat du pain dilué dans des tubes à essais sans oublier le blanc (eau distillé).
- Ajouter à cette gamme 1 ml d'une solution de phénol à 5%
- Ajouter délicatement 5 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré (95%) : Attention au dégagement fort de la chaleur.
- Agiter
- Introduire les tubes dans un bain marie bouillant pendant 5 min puis refroidir les tubes pour arrêter la réaction.
- Laisser la réaction se faire à l'obscurité pendant 30 min,
- Faire une lecture dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 492 nm.
- Le calcul des concentrations en sucres totaux dans l'hydrolysât pure s'effectue par extrapolation des densités optiques sur la courbe d'étalonnage- sucres totaux **(Annexe)** et multiplication par le facteur de dilution.

c). Dosage des sucres réducteurs par la méthode de l'acide dinitrosalycilique

C'est une méthode basée sur la formation d'un chromatophore entre le réactif DNS (voir annexes) et les terminaisons réductrices des molécules des sucres. En effet, à température élevée, en milieu basique et en présence des sucres réducteurs, le réactif DNS de couleur jaune est réduit en acide 3-amino-5-nitrosalicylique (brun), et les groupements aldéhydes des sucres sont oxydés en groupements carboxyles.

Mode opératoire

- Mettez 3ml d'hydrolysat du pain dilué dans un tube à essai.
- Ajoutez 3ml du réactif DNS. Agitez et plongez-le dans un bain-marie bouillant pendant 5mn.
- Ajoutez, alors, 1ml de Rochelle salt et laissez- le refroidir.
- Lire la densité optique à 575nm.
- Le calcul des concentrations en sucres réducteurs dans l'hydrolysât pure s'effectue par extrapolation des densités optiques sur la courbe d'étalonnage-sucres réducteurs **(Annexe)** et multiplication par le facteur de dilution.

IV. 4. Résultats et discussion de la caractérisation du pain

Il faut signaler que nous avons réalisé une caractérisation du lot de pain moisi humide utilisé au cours de nos fermentations afin de calculer convenablement les rendements par rapport à la matière sèche en tenant en compte du taux d'humidité et par rapport aux sucres en considérant convenablement leurs pourcentages dans le pain moisi humide utilisé.

Enfin et comme le déchet de pain moisi est variable et son humidité dépend du degré d'avancement dans la fermentation solide, nous avons opté pour une caractérisation définitive de la matière sèche en termes en termes de sucres totaux et réducteurs indépendamment du taux d'humidité. C'est la raison pour laquelle une seconde caractérisation a été réalisée pour un échantillon de pain moisi sec (après séchage).

Les résultats relatifs à la caractérisation du pain moisi sont présentés sur le **(tableau VI. 2).**

Tableau VI. 2. Taux d'humidité, de matières sèches et de sucres totaux dans le pain moisi humide et le pain moisi sec

	Humidité (%)	**Matière sèche (%)**	**Sucres totaux (%)**	**Sucres réducteurs (%)**
Pain moisi humide	44	56	39	**37,7**
Pain moisi sec	/	100	77	**57,7**

L'analyse comparative du pain moisi humide (44% d'humidité) et sec a révélé une augmentation significative des teneurs en sucres totaux (de 39 % à 77 %) et en sucres réducteurs (de 32 % à 57,7 %) après déshydratation. Cette augmentation s'explique par la concentration induite par la perte d'eau et la cessation de l'activité métabolique microbienne. Sachant que la méthode de Dubois a été utilisée pour déterminer la quantité des sucres totaux dans les deux échantillons. Les sucres totaux comprennent tous les types de sucres présents dans le pain, qu'il s'agisse de sucres simples (comme le glucose et le fructose) ou de sucres complexes (comme l'amidon et la malt dextrines).

Ces résultats montrent que le pain moisi conserve encore une valeur nutritionnelle élevée malgré la décomposition suite à la fermentation solide, notamment en ce qui concerne sa teneur en sucres. Cela en fait un bon substrat pour les industries de l'énergie verte, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour le recyclage des déchets alimentaires et la promotion du développement durable. Il constitue donc une matrice plus stable, plus riche en substrats fermentescibles, et mieux adaptée à une fermentation éthanolique optimisée.

IV. 5. Production du bioéthanol à base de pain moisi

V. 5. 1. Préparation de la Préculture

Les précultures pour les fermentations du bioréacteur discontinu au niveau de laboratoire sont réalisées dans des Erlenmeyer de 250 ml avec un volume utile de 100ml. La préculture est préparée en ajoutant le pain moisi au milieu de fermentation.

IV. 5. 2. Réalisation des fermentations

Le milieu de culture est réparti dans des erlenmeyers de 1 litre et 2 litres selon la disponibilité au laboratoire avec un volume utile de 500 ml et 1000 ml, respectivement. Un incubateur agité a été utilisé pour assurer une température fixe et une agitation moyenne durant tout le temps de fermentation, afin d'assurer une bonne homogénéisation et un bon transfert de matière. Le protocole expérimental qui nous a permis de réaliser toutes ces fermentations est présenté dans la **(fig. IV. 5.)**

Les paramètres variés durant la fermentation sont : masse du pain moisi introduite par litre de milieu, la taille de l'inoculum ainsi que la durée de la fermentation.

Durant les fermentations, des prélèvements de 10ml de mou de fermentation ont été réalisés à des temps définis afin de suivre l'évolution :

- De la biomasse microbienne par prise de DO à 600nm.
- Du pH,
- Des sucres totaux et des sucres réducteurs. Le dosage de ces sucres s'effectue après centrifugation selon le même protocole que dans l'hydrolysat du pain moisi.

IV. 5. 3. La distillation

Après les périodes de fermentation, chaque culture a été soumise à une distillation afin d'extraire le bioéthanol produit **(fig. IV. 5).**

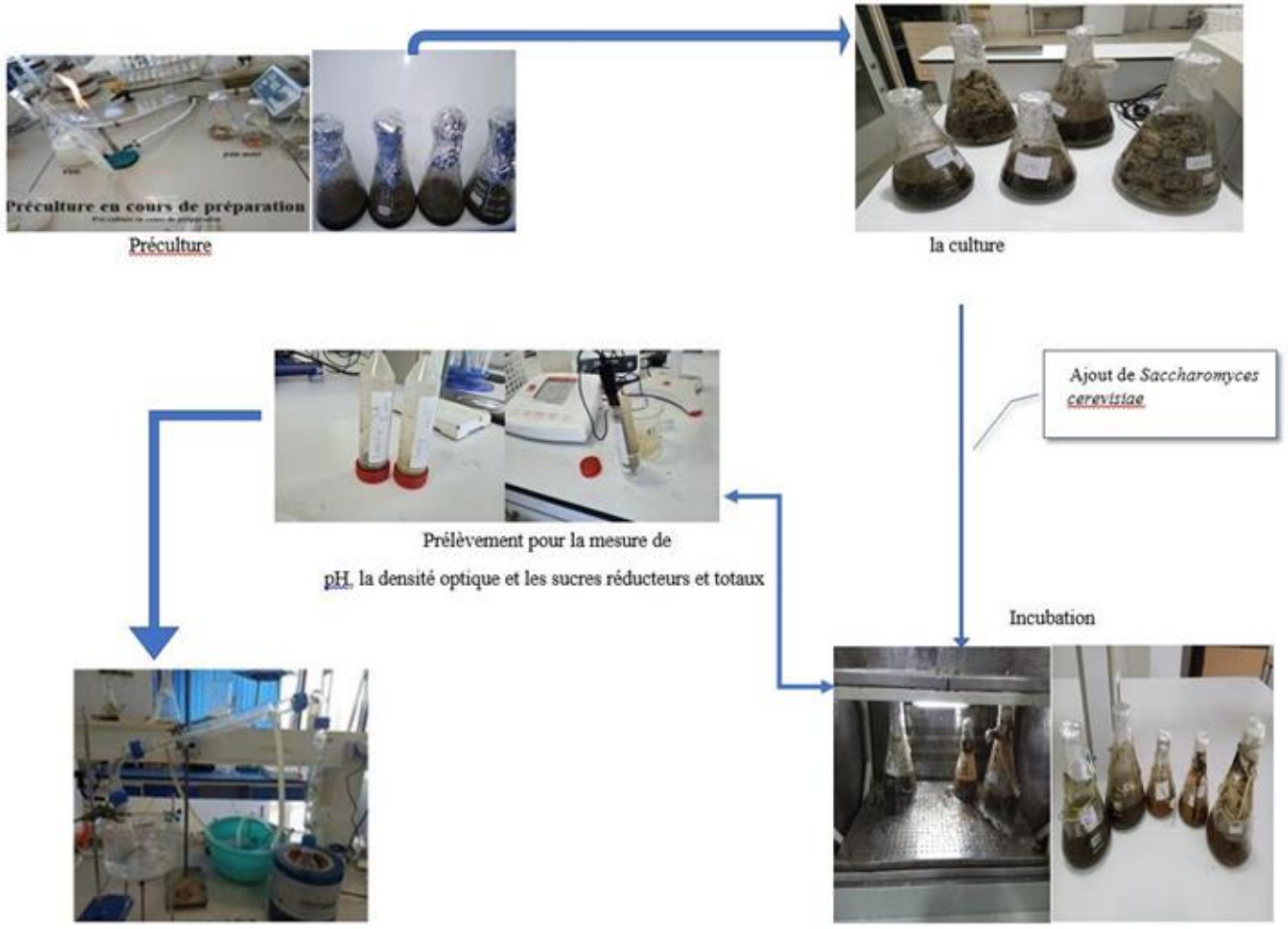


Fig. IV. 5. Les différentes étapes de la fermentation.

IV. 6. Résultat et Discussion des fermentations

Comme précédemment cité, notre travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche sur la production de bioéthanol à partir du pain moisi et constitue la suite des travaux réalisés par Bouchher et hanaoui (2024). Lors de leur travail, réalisé selon la stratégie des plans d'expérience, des résultats prometteurs ont été obtenu.

Dans cette suite, nous avons repris les expériences : différents facteurs physico-chimiques peuvent influencer ce bioprocédé de production de bio- éthanol à savoir l'inoculum, la température et la quantité du pain.

Tableau IV.4. La matrice expérimentale

Expérience	Inoculum	Temps de fermentation	Bread weight
1	-1	-1	-1
2	-1	1	-1
3	1	-1	-1
4	1	-1	1
5	-1	1	1
6	-1	-1	1
7	1	1	1
8	1	1	-1
Moyenne manipe centrale	0	0	0

IV. 6.1. Analyse globale des résultats

Il faut noter que le rendement de production et la quantité d'éthanol produite sont des grandeurs indicatrices d'une bonne conversion du substrat vers la synthèse du bioéthanol. Ces grandeurs qui indiquent la qualité de la fermentation et par conséquent la qualité des conditions de la culture (Température, agitation, pH, présence de sucres assimilables, taille de l'inoculum…).

Le calcul de la productivité du bioéthanol par *Saccharomyces cerevisiae* est essentiel pour évaluer l'efficacité du procédé de fermentation et optimiser les conditions opératoires tel que l'aptitude de différentes sources carbonées (pain moisi, dattes, betterave) à être converties en éthanol, le dimensionnement du bioréacteur ainsi que le coût de production. Les résultats de la productivité et le rendement de l'éthanol pour chaque expérience sont présentés dans la figure IV. 6.

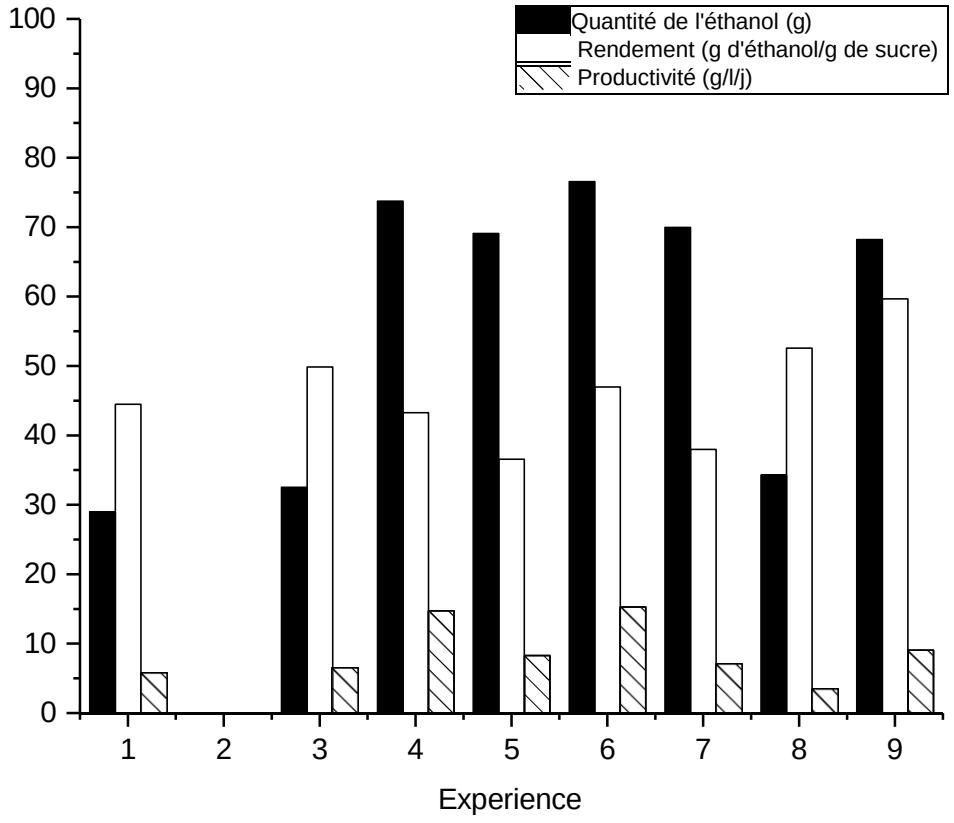


Fig. IV. 6. La quantité de l'éthanol, le rendement et la productivité de l'éthanol en fonction de différentes conditions expérimentales

La figure IV. 6, montre que la meilleure productivité est obtenue dans les conditions de

l'expérience 6 (500g de pain moisi, 5% et 5jours) qui est de l'ordre de 15,32 g/l/j avec un rendement de 47g d'éthanol/ 100g de sucres contre 5,8 g/l/j et un rendement de 44,5 g d'éthanol/100g de sucres dans les conditions de l'expérience 1 (200g de pain moisi, 5%, 5jours). Les quantités de l'éthanol produite est de 76,62 g et 29 g dans les conditions de l'expérience 6 et 1, respectivement. On remarque que les deux expériences 6 et 1 ont produit l'éthanol avec des rendements (P/S) proches mais avec des quantités d'éthanol nettement différentes **(fig. IV. 6).** Cette différence peut être expliquée par la quantité du pain moisi utilisée qui est 200g pour l'expérience 1 et 500 g pour l'expérience 6.

Dans certaines expériences, nous avons remarqué une bonne production d'éthanol de l'ordre de 34,3 g (expérience N°8) et avec un rendement maximal (52,6 g éthanol/100g de sucre), dépassant ainsi le rendement théorique (51,1 g d'éthanol/100g de sucre), mais avec une faible productivité de l'ordre de 3,43g/l/jour **(fig. IV. 6).**

De même, on remarque que l'expérience 4 a été réalisée pour un temps de 5 jours (identique à expérience 6), mais avec 10% d'inoculum, sa productivité (14,75g/L/J), la quantité de l'éthanol (73,78g) ainsi que le rendement de production (43,3g/100g) sont un peu plus faibles par rapport à ceux de l'expérience 6 (76,62 g et 47 g/100g de sucre).

Sachant que dans l'étude réalisée par Narisetty et al., 2022 **[91]** en utilisant le glucose pur, le pain après un traitement acide et le pain après un traitement enzymatique pour la production du bioéthanol par la souche *Saccharomyces cerevisiae* KL17, le taux de conversion obtenu était, respectivement, 0,48, 0,47 et 0,49 g/g. ces résultats corroborent avec les résultats obtenus dans notre étude. De même, Liu et al., 2020, **[92]** qui ont travaillé sur la production de l'éthanol à partir des déchets de pizza après un pré- traitement enzymatique par l'α-amylase, ont obtenu une productivité de 0,46g/l/h et qui est nettement inférieure à celle obtenue dans notre travail et qui est de l'ordre de 0,64g/l/h (15,32 g/l/j).

IV. 6.2. Analyse approfondie des résultats

Dans le but d'expliquer et de comprendre le comportement de la flore fongique, du pain moisi et de la levure ajoutée, nous avons réalisé une étude cinétique de l'évolution du pH du milieu de fermentation, la DO à 600nm, la concentration des sucres réducteurs et la concentration des sucres totaux en fonction du temps, pour chaque expérience.

L'évolution des différents paramètres de croissance et des conditions physico-chimiques de la fermentation de l'expérience 1 sont présentés dans la figure IV. 7.

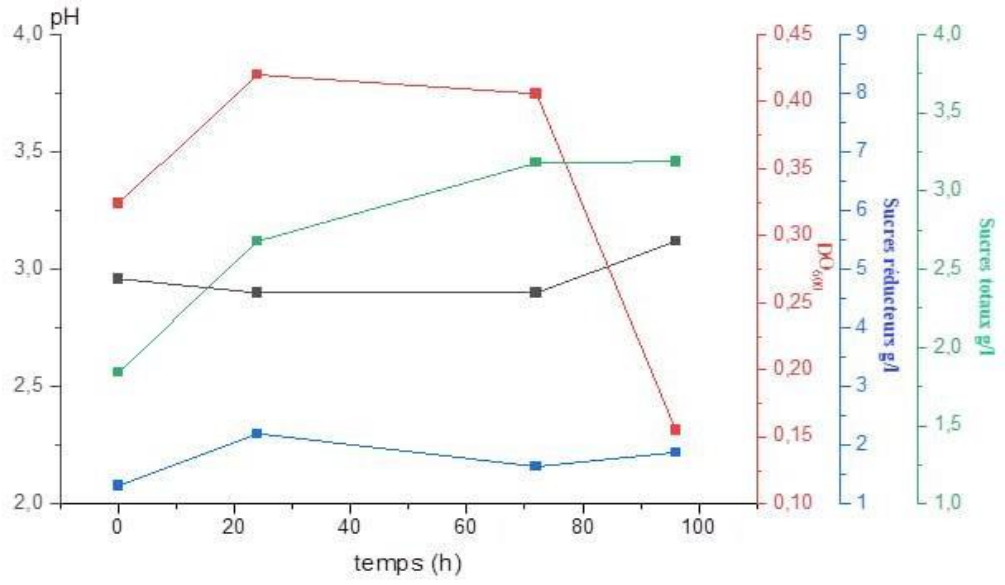


Fig. IV. 7. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (200g du pain moisi, inoculum à 5% et 5jours de fermentation (N°1).

La fermentation de 200g de pain moisi, pendant 5 jours, en présence d'un inoculum de 5% de levures à 30°C a permis d'atteindre une bonne productivité de 5,8 g/L/j malgré un pH acide de l'ordre de 2,9 pendant toute la fermentation pour atteindre 3,12 vers la fin de la fermentation à partir de 72h (**fig. IV. 7**). Sachant que *Sacharomyces cerevisiae* est connue pour sa capacité à fermenter efficacement dans des conditions acides (pH d'environ 3- 3,5) **[93].** Ce qui limite la concurrence bactérienne et permet à la levure de dominer le milieu. La figure IV. 7, montre une évolution parallèle et légèrement croissante des sucres totaux et des sucres réducteurs suggérant une hydrolyse continue de la matière sèche (pain moisi), probablement grâce à l'action enzymatique des microorganismes présents. Cela maintient un apport régulier en sucres fermentescibles, même si leur consommation est rapide par la levure. Dans ces conditions l'obtention d'une productivité de l'ordre de 5,8g/l/j et un rendement spécifique de 44,5g d'éthanol/100g de sucre, représente 89% du rendement théorique maximal (51,1g d'éthanol/100g de sucre) pour la fermentation par *Sacharomyces cerevisiae*, indiquent une conversion efficace des sucres fermentescibles, bien que le rendement global par rapport à la matière sèche (0,194g d'éthanol/g de sucre) soit plus faible, ce qui est typique d'un substrat complexe dont une partie n'est pas directement accessible ou fermentescible **[94]** . Ceci est, probablement, dû à un inoculum suffisant de 5% assure une densité cellulaire initiale élevée, favorisant une prise rapide du milieu et une fermentation dynamique dès le début du procédé. Cela permet d'atteindre rapidement la phase exponentielle (au bout de 24h) **(figure. IV. 7**) et d'optimiser la conversion des sucres en éthanol. La figure IV. 7, montre la

succession des phases exponentielles, stationnaire et de déclin reflète une fermentation bien maitrisée, ou la croissance cellulaire et la production d'éthanol (non dosé) sont synchronisées avec la disponibilité des sucres et la tolérance au stress acide **(fig. IV. 7).** Cette acidotolérance est due au fait que certaines souches de *Sacharomyces cerevisiae* et d'autres levures industrielles sont capables de maintenir une activité fermentaire élevée même à des pH bas, proche de 3 **(fig. IV. 3)**. En plus, le pH acide limite la croissance des bactéries et d'autres contaminants, laissant la voie libre à la levure pour dominer la fermentation. Cela réduit la compétition pour les nutriments et maximise la conversion des sucres en éthanol (**fig. IV. 7)**. Il est à noter, également, qu'à 30°C, l'activité métabolique de la levure est optimale **[95]**. Ce qui compense partiellement le stress acide **(fig. IV. 7).**

L'augmentation de l'inoculum levurien à 10% dans les mêmes conditions nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans la figure IV. 8.

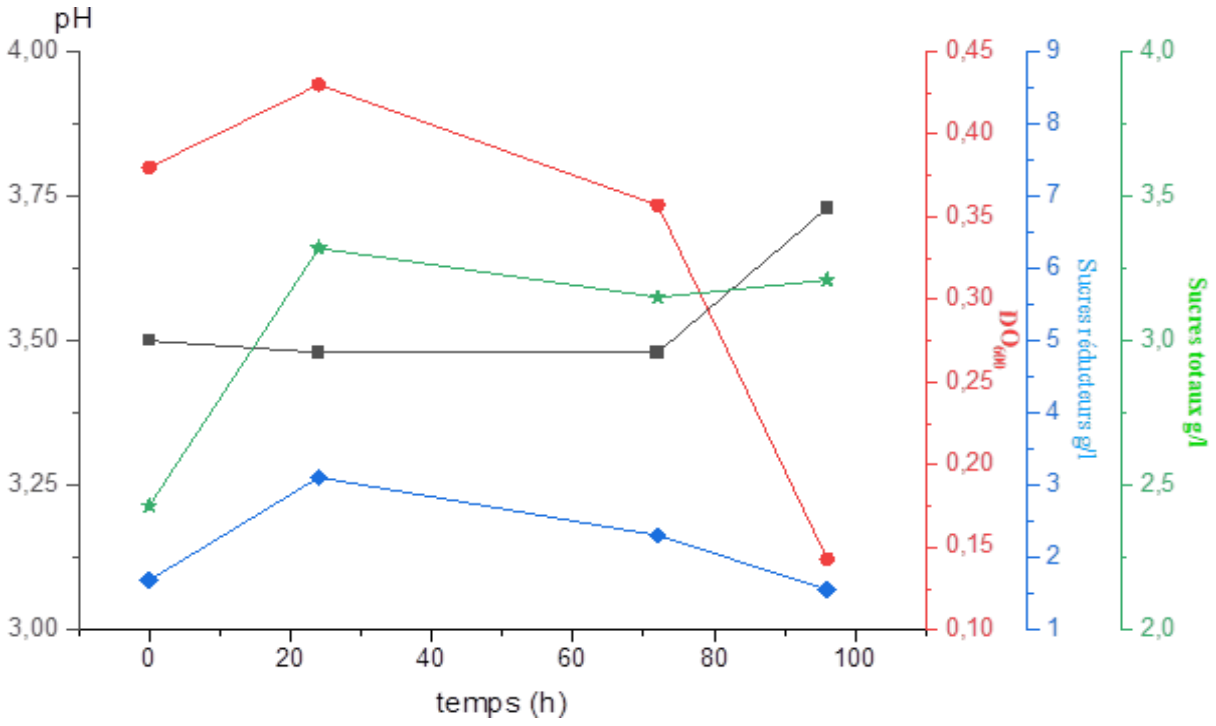


Fig. IV.8. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (200g du pain moisi, inoculum à 10% et 5jours de fermentation(N°3).

L'utilisation de 10 % de levure pour la fermentation de 200 g de pain moisi à 30°C a permis d'obtenir une productivité de 6,51 g/l/j et un rendement de 49,9 g d'éthanol/100g de sucre, soit

près de 97% du rendement théorique suggérant ainsi une excellente conversion métabolique par la levure.

L'évolution parallèle des sucres totaux et réducteurs, avec une augmentation initiale 2,43g/l jusqu'à 3,32g/l pour les sucres totaux et 1,69g/l jusqu'à 3,11g/l pour les sucres réducteurs **(fig. IV. 8)**, suivie d'une diminution de ces concentrations à 3,15 g/l pour les sucres totaux et 1,56g/l pour les sucres réducteurs au bout de 100h, témoigne d'une hydrolyse efficace de l'amidon par les moisissures, puis d'une assimilation rapide et quasi complète des sucres libres avec une faible diversion vers des sous- produits (acides organiques, glycérol…) par les levures **[96].**

La dynamique de croissance suit un schéma classique, avec une phase exponentielle initiale, une phase stationnaire de 24 à 80 h, et une phase de déclin accompagnée d'une baisse rapide des sucres.

Le maintien du pH à 3,5 jusqu'à 80 h a favorisé l'activité enzymatique et fermentaire, ainsi qu'il limite les compétiteurs pour la levure ; Tandis que sa légère hausse finale (3,73) pourrait être liée à des phénomènes d'autolyse cellulaire et la diminution de la production d'acides organiques en fin de fermentation.

Ces résultats confirment le potentiel du pain moisi comme substrat efficace et peu coûteux pour la production de bioéthanol, en particulier dans un système combinant enzymatique naturel (moisissures) et fermentation levurienne optimisée**.**

La figure IV. 9, montre que la cinétique de croissance présente quatre phases : une phase de latence prolongée (0–40 h), montrant que la levure s'adapte difficilement (indicateur de stress ou d'inhibition). Une courte phase exponentielle (40–50 h) indiquant une faible multiplication.

Croissance lente jusqu'à 100h, probablement d'autres micro-organismes (bactéries, moisissures). Et une phase de déclin de 100 à 240 h due à l'épuisement du substrat, pH stable et environnement toxique. Cette cinétique n'est pas typique d'une population de *Saccharomyces cerevisiae* mais plutôt d'un mout de fermentation contaminé. Ces résultats soulignent l'importance d'un pH initial acide pour assurer une production efficace de bioéthanol.

L'augmentation de l'inoculum à 10% tout en restant dans les mêmes conditions c'est-à-dire fermentation 200g de pain moisi à 30°C pendant 10 jours nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans la figure IV. 10.

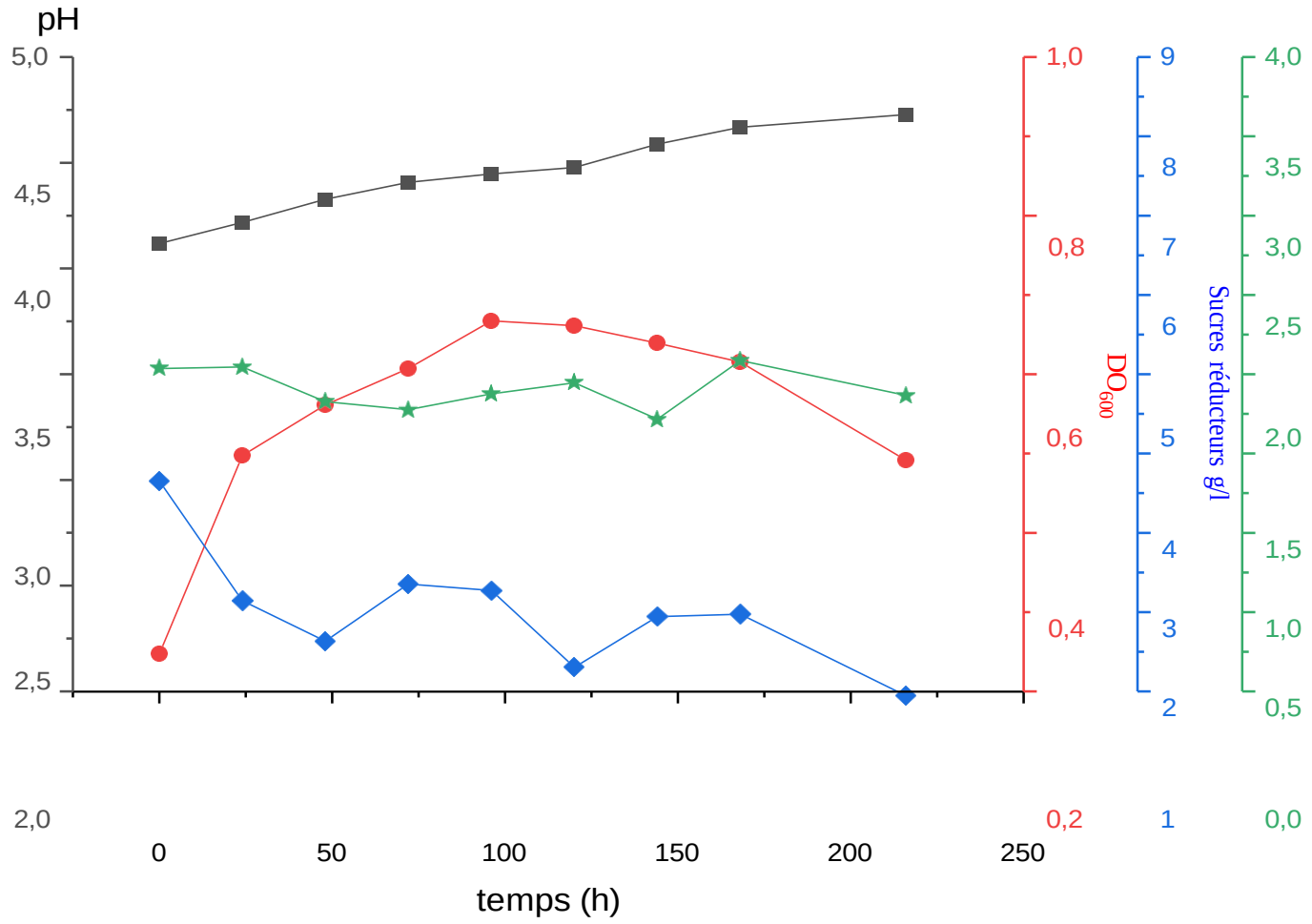


Fig. IV. 10. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (200g du pain moisi, inoculum à 10% et 5jours de fermentation (N°8).

Ces conditions, ont permis une production efficace de bioéthanol (3,43 g/L/j) avec un rendement élevé (52,6 g/100g de sucres) qui est supérieur au rendement théorique de Gay-Lussac

(51,1 g d'éthanol/g de sucre) qui peut être expliqué par la conversion simultanée de pentoses et des hexoses.

L'évolution parallèle des sucres totaux et réducteurs, ainsi que la diminution progressive de ces derniers même en phase de déclin de la biomasse, témoignent d'une fermentation bien dirigée.

Le pH stable entre 4,2 et 4,9 a favorisé la dominance des levures, empêchant le développement de microorganismes compétiteurs sans déviation métabolique.

Ces résultats démontrent que le bon équilibre entre charge microbienne, pH et temps de fermentation est déterminant pour optimiser la conversion des sucres en éthanol.

L'augmentation de la quantité du pain moisi à 500g fermenté avec 5% de levure et incubé pendant 5 jours a permis l'obtention les résultats présentés dans la figure IV. 11.

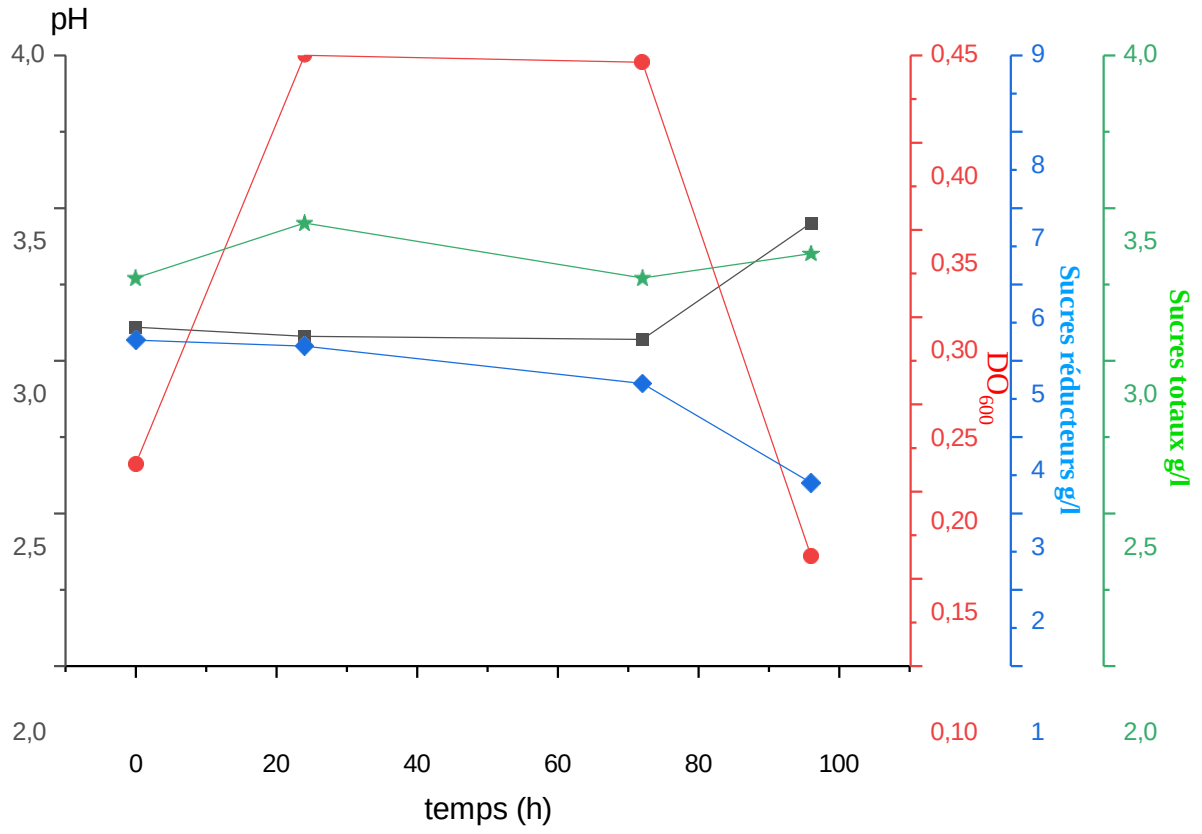


Fig. IV. 11. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps(500g du pain moisi, inoculum à 5% et 5jours de fermentation (N°6).

Cette fermentation alcoolique a été conduite à 30°C pendant 5 jours en fermentant 500 g de pain moisi, avec un ajout de 5 % de levure. Cette expérience a permis d'obtenir une production de bioéthanol atteignant 15,32 g/l/j, avec un rendement de 47 g d'éthanol/100g de sucres consommés.

Le suivi des sucres totaux et réducteurs a montré une évolution parallèle, témoignant d'une hydrolyse progressive de l'amidon et d'une consommation efficace des sucres fermentescibles. La

courbe de croissance des levures a présenté trois phases distinctes : une phase exponentielle de 0 à 24 h, une phase stationnaire de 24 à 72 h**,** suivie d'une phase de déclin au-delà de 72 h, coïncidant avec la diminution de la concentration des sucres réducteurs dans le mout de fermentation de 5,27g/l à 3,4 g/l.

Le pH du milieu, compris entre 3,11 et 3,45 durant toute la fermentation, a offert un environnement favorable à l'activité fermentaire tout en limitant la contamination microbienne. Une légère augmentation du pH après 80h suggère une lyse cellulaire et une libération de composés basiques. L'efficacité globale du procédé résulte de la synergie entre la charge microbienne du pain moisi apportant des enzymes hydrolytiques potentiellement présentes, avec une quantité plus grande et suffisante en matière sèche (càd en amidon) et une levure active en forte concentration.

La fermentation alcoolique de 10 jours a été réalisée à 30 °C en utilisant 500 g de pain moisi et une inoculation de 5% de levure (figure. IV. 12), a permis une production moyenne de bioéthanol obtenue était de 8,31 g/l/j, pour un rendement de 36,6 g d'éthanol/100g de sucres consommés.

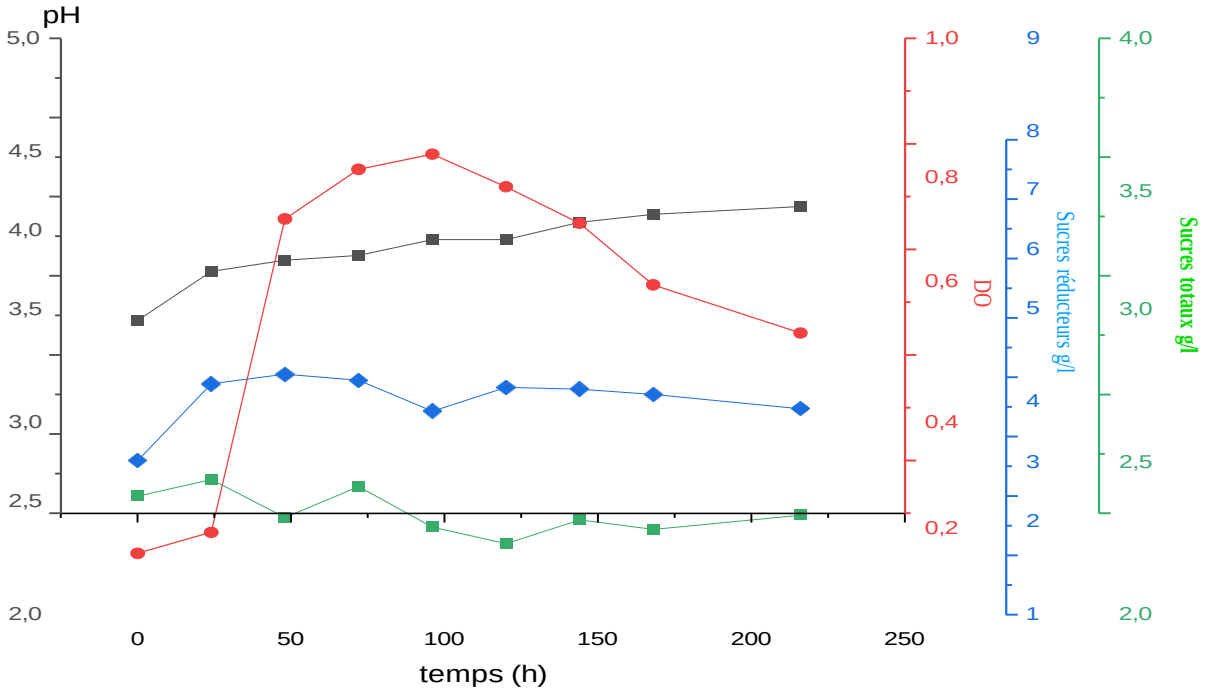


Fig. IV.12. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps (500g du pain moisi, inoculum à 5% et 10jours de fermentation (N°5).

L'analyse des sucres a révélé une augmentation des sucres réducteurs de 3,6 à 4,89 g/L au bout de 24 h **(fig. IV. 12)**, traduisant une hydrolyse active de l'amidon en phase de latence, suivie d'une stabilisation prolongée, puis d'une diminution tardive (4,47 g/l). En revanche, la concentration

en sucres totaux est restée quasi stable (2,5 à 2,41 g/l)**,** suggérant une hydrolyse incomplète ou une transformation partielle non détectée. La croissance des levures a présenté une phase de latence de

24 h, suivie d'une croissance exponentielle retardée jusqu'à un pic à 100 h, puis d'une phase de déclin marquée par une diminution progressive des sucres et une perte de viabilité cellulaire.

Le pH a augmenté continuellement de 3,86 à 4,58 **(fig. IV. 12**), reflétant probablement la consommation d'acides organiques, la lyse cellulaire et la libération de composés basiques. Cette élévation du pH, associée à l'accumulation d'éthanol, pourrait expliquer l'inhibition progressive de la fermentation. Ces résultats mettent en évidence les limites d'une fermentation prolongée, avec une efficacité globale réduite : une durée supérieure à 5jours limite la tolérance de la levure à l'éthanol produit qui devient toxique. De plus cette durée pourrait entrainer une reconversion de l'éthanol produit (probablement en acides acétique) par les microorganismes présents (probablement des bactéries acétiques) afin de limiter sa toxicité ce qui réduit sa productivité.

La fermentation du pain moisi dans les mêmes conditions physicochimiques avec une augmentation de l'inoculum à 10%, une durée de 10 jours et 500 g de pain moisi nous a permis de tracer le graphe dans la figure IV. 13.

La concentration en sucres réducteurs a fortement augmenté durant les premières 24 h (de 2,81 à 7,4 g/L), traduisant une hydrolyse rapide de l'amidon, suivie d'une chute corrélée à la phase exponentielle de croissance microbienne atteignant un pic à 100 h.

Les sucres totaux ont légèrement diminué durant tout le processus, atteignant une valeur résiduelle de 2,43 g/l sachant que leur concentration initiale était de 2,7g/l, ce qui suggère la présence de polysaccharides non fermentescibles.

Le pH initialement 4,54 a favorisé une croissance rapide, mais a continué à augmenter jusqu'à 5,12 à 216 h, possiblement en lien avec la lyse cellulaire ou des transformations azotées.

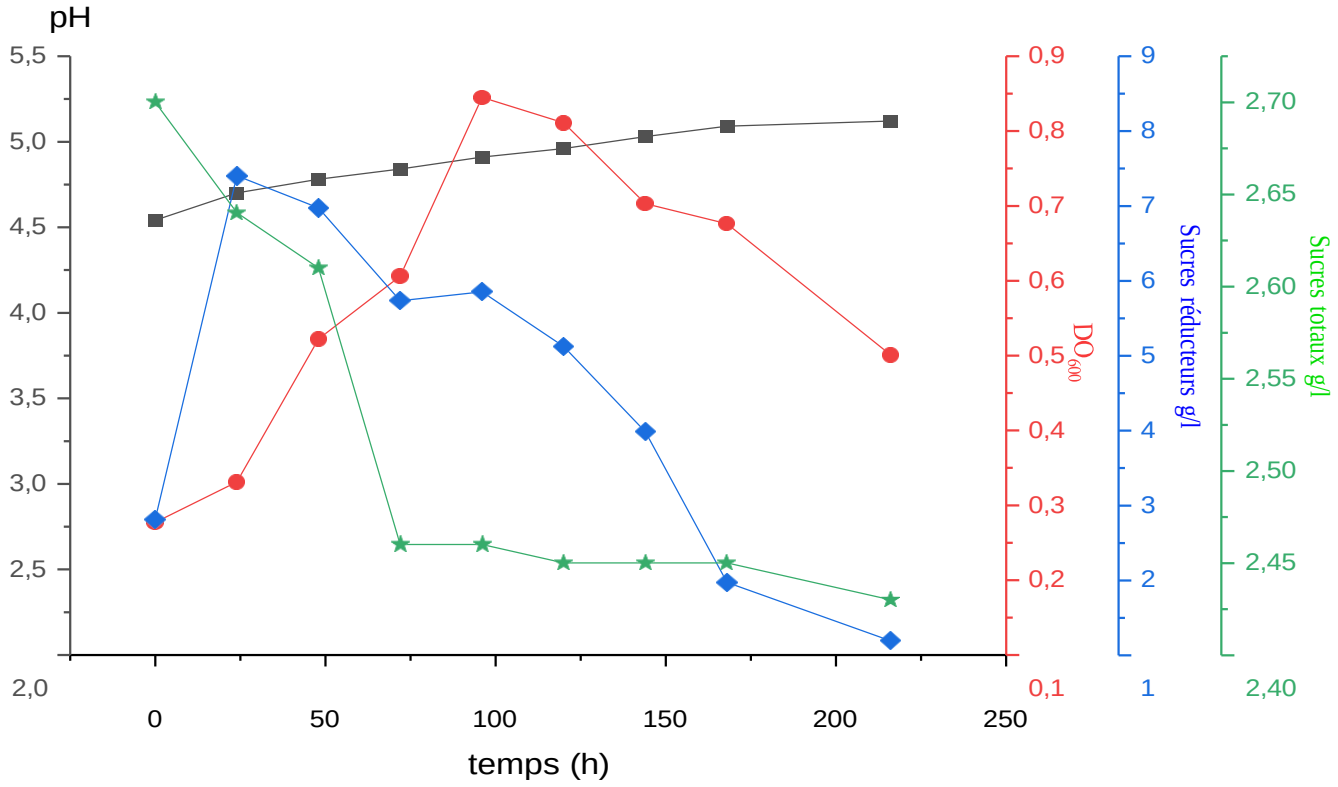


Fig. IV.13. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction du temps(500g du pain moisi, inoculum à 10% et 10jours de fermentation(N°7).

Le processus a permis une production de bioéthanol de 7,03 g/l/j, avec un rendement élevé de 38 g d'éthanol/100g de sucres consommés. Ces résultats démontrent que l'augmentation de la concentration en levure n'améliore pas la productivité. Ces résultats démontrent une fois de plus qu'une durée supérieure à 5jours limite la tolérance de la levure à l'éthanol produit qui devient toxique. Et que l'éthanol qui se trouve en forte concentration est reconverti. L'optimisation des conditions (pH, disponibilité en azote, inhibition éthanolique) reste nécessaire pour maintenir un haut rendement au cours de temps.

La réduction du temps de fermentation à 5jours tout en gardant 500 g de pain moisi et 10% de levure a donné 15,32 g/l/j de bioéthanol avec un rendement de 47 g d'éthanol/100g de sucres**.** Le suivi des différentes cinétiques a permis de tracer le graphe dans la figure IV. 14.

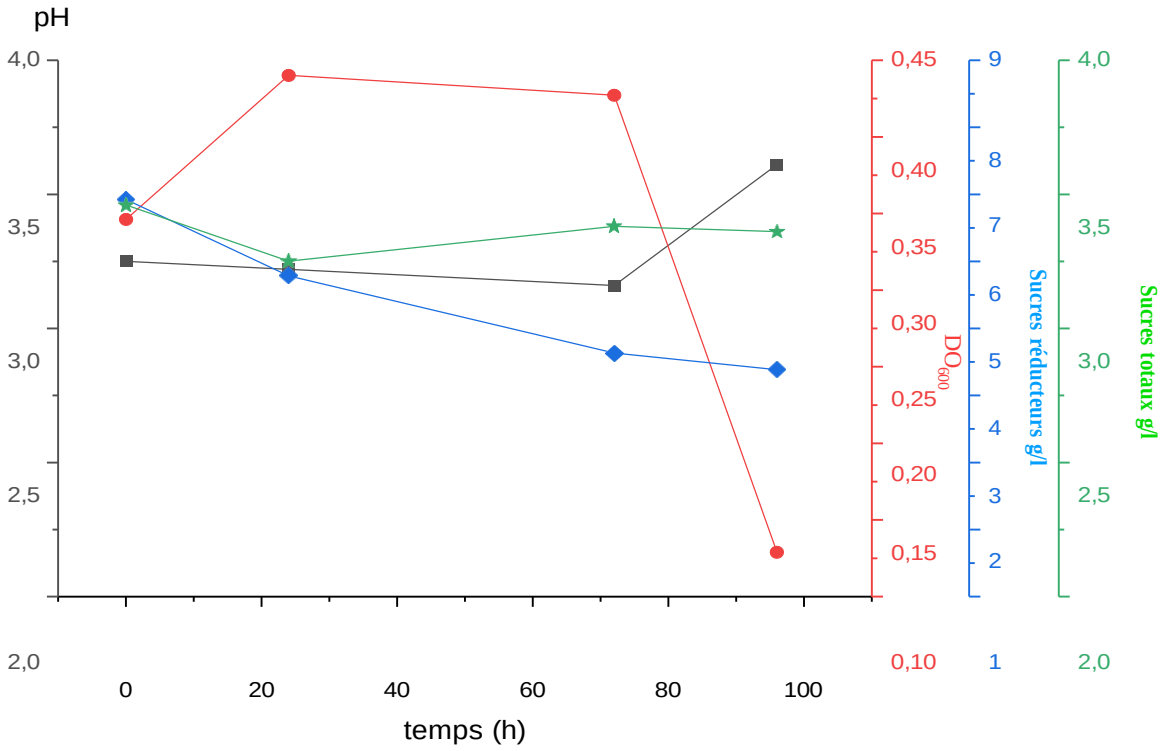


Fig. IV. 14. Evolution du pH, DO, des sucres réducteurs et des sucres totaux en fonction Du temps (500g du pain moisi, inoculum à 10% et 5jours de fermentation) (N°4).

Une forte inoculation favorise une activité fermentaire rapide dès le début. Cela permet une phase exponentielle courte (24 h), avec une conversion efficace des sucres en éthanol. L'efficacité de la levure limite la compétition avec d'autres microorganismes, assurant une fermentation plus dirigée.

La diminution des sucres réducteurs montre que la levure consomme activement ces sucres fermentescibles (glucose, maltose...). Tandis que, l'augmentation des sucres totaux à partir de 24h peut s'expliquer par une hydrolyse enzymatique accrue des polysaccharides complexes du pain moisi (amidon, dextrines), libérant plus de sucres totaux dans le milieu. Cette hydrolyse enzymatique (par amylases et autres enzymes fongiques dans le pain moisi ou sécrétées par la levure) permet un approvisionnement continu en sucres fermentescibles, ce qui soutient la production élevée d'éthanol.

En ce qui concerne la croissance microbienne, la phase exponentielle de 24h correspond à une forte activité métabolique, où la levure se multiplie et convertit efficacement les sucres en

éthanol. La phase stationnaire (24–72h) correspond à un équilibre où la levure ralentit sa croissance, la production d'éthanol se maintient mais à un rythme plus lent. Pendant la phase de déclin (après

72h), le dosage des sucres réducteurs montre une diminution de leurs concentrations mais il y a une certaine concentration résiduelle (de 6,92g/l à 4,38g/l), cette chute dans la croissance cellulaire est peut-être dû à l'accumulation de l'éthanol et des substances toxiques à cause de la lyse cellulaire.

La figure IV. 14, montre, également, que le pH acide (3,11- 3,45) est favorable à la levure, limitant la contamination, ainsi qu'il favorise l'activité des enzymes fongiques et levurienne impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon et ses sous-produits et la fermentation alcoolique (une légère augmentation du pH après 80h peut être liée à la production de composés basiques (ammoniac, amines) issus de la dégradation de protéines ou d'autres métabolites secondaires durant la phase de déclin. Ce pH stable garantit aussi que les enzymes hydrolytiques restent actives tout au long de la fermentation.

Un raccourcissement de la durée de la fermentation nous épargne des effets toxiques de l'éthanol qui induisent à sa reconversion dans le système ce qui réduit sa quantité et par conséquent le rendement global et la productivité de la fermentation.

L'exécution de la fermentation avec les conditions du centre du domaine d'étude qui correspond à 350g de pain moisi fermenté avec 7,5% de levure pendant 7,5jours, nous a permis l'obtention des résultats présentés dans la figure IV. 15. Ces conditions ont mené à une productivité de 9,09g/l/j avec un rendement de 59,7%.

L'analyse de ces cinétiques nous emmène à conclure que la quantité du pain fermenté et la quantité de l'inoculum utilisé influence positivement le rendement de l'éthanol. Tandis que le temps de fermentation est un paramètre qui peut influencer négativement le rendement de production de l'éthanol par levure. L'augmentation de la quantité de pain moisi enrichit le milieu en sucres fermentescibles, stimulant ainsi la production d'éthanol. De même, un inoculum plus élevé de levures assure une fermentation plus rapide et plus complète avec une dominance de la levure dans le système microbien par rapport aux autres microorganismes. Toutefois, un allongement excessif du temps de fermentation entraîne une diminution du rendement, liée à l'inhibition de la croissance des levures par l'éthanol accumulé, la dégradation métabolique (reconversion suite au stress exercé par ses concentrations élevées) ou la perte de l'éthanol produit par volatilisation si le système n'est pas bien fermé.

IV. 7. Caractérisation du bioéthanol produit

IV. 7. 1. Tests d'identification

IV. 7. 1. 1. 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.

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

D'après la figure IV. 20, et après l'ajout du réactif de bichromate de potassium, nous avons obtenu 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.

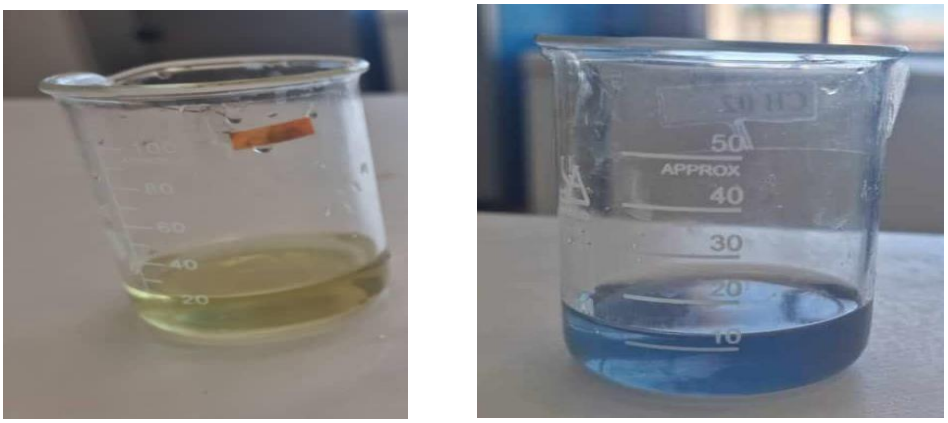


Fig. IV. 20. Résultat de la révélation de l'éthanol dans le distillat global au bichromate de potassium.

IV.7. 1. 2. Flambage du distillat

On prend un volume du distillat obtenu dans un verre de montre et on flambe le contenu de ce dernier **(fig. IV. 21).** La flamme bleue est un indicateur que l'éthanol est présent dans le distillat avec une concentration suffisante.

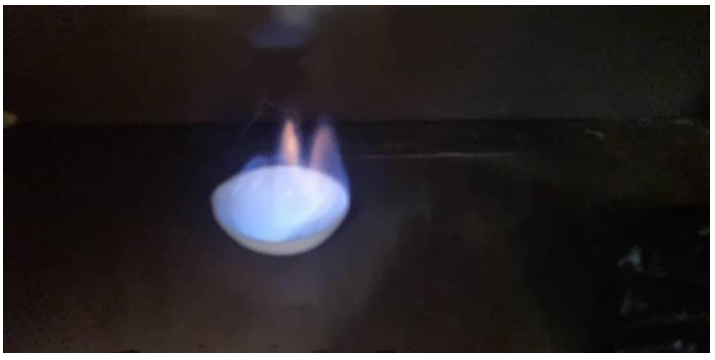


Fig. 21. Résultat du flambage du distillat.

IV. 7. 1. 3. Test d'identification B (selon USP) [103]

- ✓ A 0.5ml de distillat, ajouter 5ml l'eau distillée bouillie et refroidie.
- ✓ Ajouter 2ml de NaOH (1N).
- ✓ Ajouter doucement 2ml de l'iodine (0.05N).

✓ Conserver la solution dans un tube, remarquer la formation d'un précipité jaune à partir de 30min.

Après 30min nous avons obtenu un précipité jaune attestant la présence de l'éthanol **(fig. IV. 22).**



Fig. IV. 22. Résultat du test d'identification B.

III. 7. 1. 4. Le spectre Infrarouge

Le spectre infrarouge du distillat obtenu et celui de la molécule de référence : Ethanol 97% est présenté dans la figure IV. 23. La comparaison des deux spectres, nous montre qu'il s'agit bien du même produit (Ethanol) puisque nous avons obtenu des pics aux mêmes bandes dans les deux spectres. On parle de :

- La bande d'allongement caractéristique de la fonction OH située à 3456cm^{-1} présente dans les alcools (O-H libre : [3690-3400], O-H lié (liaison H) : bande large à [3500-2800].
- La bande de déformation caractéristique de la fonction OH à 1404 cm^{-1} présente dans les lcools primaires (O-H (alcool primaire) : [1350-1260]).
- La bande d'allongement caractéristique de la liaison C-H à (2337 et 2985) cm^{-1}. La bande située à 1385cm^{-1} peut être aussi celle de déformation correspondante à la liaison C-H. (C- H des chaînes aliphatiques et des groupements CH_3 : [3000-2700] et [1404-1249].
- La bande de la liaison –C-O présente dans les alcools primaires à 1049,31 cm^{-1} (C-O des alcools primaires : [1095-1100].

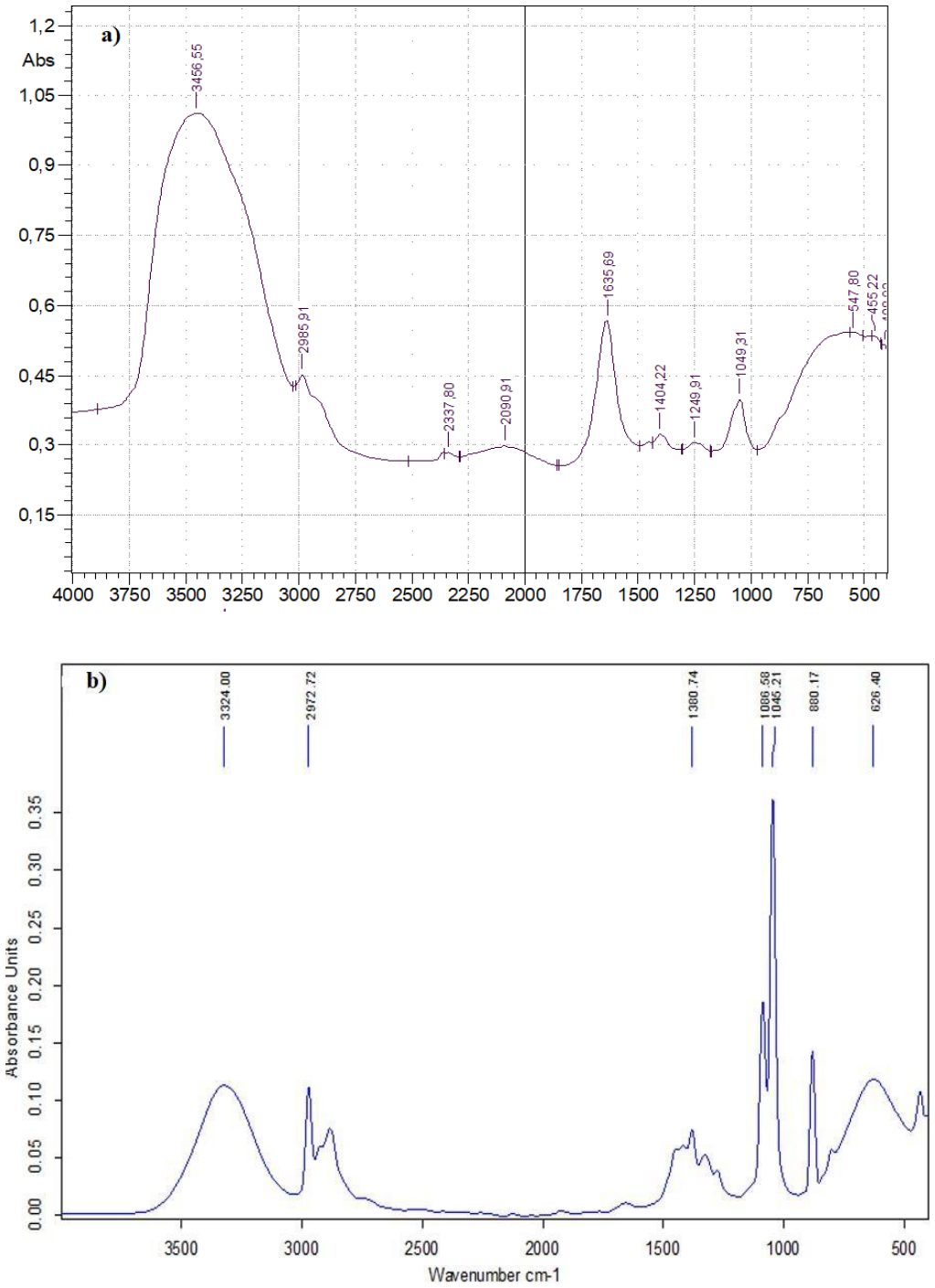


Fig. IV. 23. Spectre Infrarouge de (a) distillat de l'expérience N°6 (b) éthanol (96%).

IV. 7. 2. Tests de qualité

IV. 7. 2. 1. Absorbance dans le domaine ultra-violet :(selon USP) [103]

Il s'agit d'un test d'identification et de qualité en même temps. Mesurer l'absorbance entre 240 nm et 340 nm contre le blanc qui est l'eau distillée. Le spectre doit présenter une courbe progressive sans aucun pic avec les limites des absorbances présentées dans le tableau IV. 5.

Tableau IV. 5. Normes des absorbances dans le domaine de l'UV de l'éthanol (96% v/v) (92,6 % m/m) selon USP [103]

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

La mesure de l'absorbance du distillat obtenu, dans les conditions de l'expérience N°6, entre 240-340 nm nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau IV. 6.

Tableau IV. 6. Absorbances dans le domaine de l'UV obtenus pour le distillat.

λ (nm)	DO
240	0
250	0,02
255	0,02
260	0,03
270	0,07
305	0,11
340	0,12

Dans l'ensemble, ce distillat répond aux normes exigées par la pharmacopée européenne et l'USP. Cependant, ces normes correspondent à un éthanol (96% v/v) (92,6 % m/m) alors que le distillat obtenu dans notre travail est à 70% massique (70% volumique).

IV. 7. 2. 2. Test de l'Acidité (selon USP) [103]

Dans un bécher mélanger 2 ml de distillat et 2 ml l'eau distillée bouillie et refroidie et 0.1 ml de phénolphtaléine. Ajouter 0.2 ml de NAOH (0.01N). Observer le changement de la couleur. Nous jugeons que l'acidité est ≤ 30ppm exprimée en acide acétique si la couleur est rose.

La couleur est rose après addition de 0,3ml de NAOH (0.01N) **(fig. IV. 24)**, notre distillat ne répond pas aux normes exigées par la pharmacopée européenne ainsi que l'USP.



fig. IV. 24. Résultat de Test de l'Acidité

APPLICATION

Dans le but de valoriser l'éthanol bio obtenu au cours de ce travail, nous l'avons appliqué dans la formulation de deux produits cosmétiques et d'hygiène corporelle : un gel hydroalcoolique désinfectant et un splash corporel parfumé.

- **Le gel hydroalcoolique** a été préparé selon le protocole suivant :

7,5 g de gomme xanthane ont été mélangés à 20 ml de glycérine, puis un mélange de 200 g d'éthanol à 70° et 475 g d'eau distillée a été ajouté. Le tout a été homogénéisé soigneusement, puis laissé au repos jusqu'à obtention d'une texture gélifiée.

- **Le splash corporel** a été réalisé en plusieurs étapes :

Étape A : mélange de 15 ml de propylène glycol avec 6 ml d'huile d'amande douce et 60 ml de Tween 80 jusqu'à homogénéisation.
Étape B : mélange de 90 ml d'éthanol à 99 %, d'eau distillée et d'un conservateur.
Étape C : incorporation du mélange A dans B avec agitation continue.
Étape D : ajout de 30 ml d'extrait de parfum, avec possibilité d'intégrer un colorant, suivi d'un mélange final homogène.

Ces deux formulations démontrent la possibilité concrète d'utiliser l'éthanol extrait de la biomasse comme matière première efficace dans la fabrication de produits à valeur ajoutée, ce qui renforce l'aspect pratique et économique du projet.

Conclusion générale

L’objectif de ce travail est la production de bioéthanol par *Sacharomyces cereviviae* en utilisant le pain moisi en tant que biomasse amylacée.

La caractérisation physico-chimique a montré que le pain moisi est riche en sucres fermentescibles, avec une teneur en sucres réducteurs atteignant 57,7 %. L’étude mycologique a permis d’isoler des moisissures telles que *Penicillium, Rhizopus* et *Aspergillus,* connues pour leur capacité à produire des enzymes hydrolytiques favorisant la libération continue de sucres simples.

L’étude expérimentale menée avec différentes conditions de fermentation 500 g et 200 g de pain moisi, 5% et 10% de levure pendant 5 ou 10 jours de fermentation à 30 °C a permis de démontrer la faisabilité et l’efficacité de la production de bioéthanol à partir d’un substrat agroalimentaire déclassé. Les résultats obtenus montrent que :

- Une concentration élevée en levures (10%) sur une courte durée (5 jours) permet une productivité maximale (jusqu’à 15,32 g/L/h) avec un rendement allant jusqu’à 0,48 g d’éthanol/g de sucres.
- Les meilleures performances ont été obtenues avec 500 g de pain moisi, grâce à une disponibilité plus importante en matière fermentescible, notamment en sucres réducteurs.
- Les cinétiques de fermentation ont mis en évidence trois phases classiques de croissance microbienne (latence, croissance exponentielle, déclin), corrélées à l’évolution des sucres réducteurs et au pH du milieu.
- La diminution progressive des sucres réducteurs dans le moût est un bon indicateur de l’activité métabolique intense des levures, avec une consommation rapide durant la phase exponentielle.
- Le pH légèrement acide (entre 3,1 et 4,5) durant toute la fermentation favorise la croissance sélective des levures au détriment des contaminants, tout en contribuant à la stabilité du processus.
- Une fermentation prolongée (10 jours) n'améliore pas forcément le rendement mais peut au contraire conduire à une consommation excessive des substrats et à l’accumulation de composés inhibiteurs.

Les tests d’identification du distillat (dichromate, flambage, spectroscopie IR et test USP) ont confirmé la présence de l’éthanol avec une pureté acceptable, bien qu’une optimisation du procédé de distillation reste envisageable.

En conclusion, les résultats expérimentaux confirment que l’utilisation de pain moisi comme substrat de fermentation, associée à une quantité de levure contrôlée et une durée optimale, permet d’obtenir un bioéthanol de bonne qualité avec un rendement compétitif, tout en contribuant à la valorisation de déchets agroalimentaires dans une logique d’économie circulaire.

En perspective on propose de :

- **Optimiser et a**méliorer le processus par le contrôle du pH
- **Réaliser le Scal- Up en utilisant un réacteur semi- pilote ;** Développement d'une unité pilote artisanale pour des usages locaux
- Sensibiliser les boulangers et des communes à la valorisation des invendus alimentaires

Références bibliographiques

[4] M. J. O'donohue et P. Debeire, Fractionnement de la biomasse lignocellulosique en synthon, la chimie vert, Lavoisier, 2006.

[5] Barbier O. Structure cellulaire et moléculaire de la biomasse lignocellulosique. In: Rigal L, éditeur. Valorisation de la biomasse. Paris: Tec & Doc Lavoisier; 2010. p. 23-50.)

[6] M.J. O'donohue, « La production de carburants à partir de biomasse lignocelulosique par voie biologique : état de l'art et perspectives » Oléagineux, Corps gras, Lipides. Vol. 15 N° 3 pp. 172 - 177, 2008.

[7] Abo BO, Gao M, Wang Y, Wu C, Ma H, Wang Q. Lignocellulosic biomasse for bioéthanol : an overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation processes. Rev Environ Health. 2019 ;34 : 57-68. doi :10.1515/reveh-2018-0054.

[8] McMillan JD (1993) Prétraitement de la biomasse lignocellulosique. Dans : Himmel ME, Baker JO, Overend RP (éd.). Conversion enzymatique de la biomasse pour la production de carburant. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 292–323.

[9] Sharma, A., & Aggarwal, N. K. (2020). Water Hyacinth: A Potential Lignocellulosic Biomass for bioethanol l. Haryana: Springer International Publishing. 106 p.

[10] Jiang Z., Ding, W., Fan, J., Liao, Y., Remón, J., & Shi, B., 2023. Biomass derived oligosaccharides for potential lester tanning. Collagen and leather).

[13] Ballerini D. Production d'éthanol à partir de biomasse. 2006.

[14] Balat, M., Kırtay, E., Balat, H., 2019. Main routes for the thermo-conversion of biomasse into fuels and chemicals. Part 1: pyrolysis système. Energy Convers. Manage. 50, 3147–3157.

[16] Deglise X. Conversion énergétique de la biomasse : évolution et état de l'art des technologies [présentation]. Interreg Grande Région TIGRE et l'IUT de Longwy : L'efficacité énergétique et les énergies alternatives ; 2012 Jan. Longwy. DOI : 10.13140/RG.2.2.30048.25608

[17] Renewable Fuels Association. Ethanol industry outlook 2008. Washington (DC): Renewable Fuels Association; 2008.

[18] Balat M, Balat H. Tendances récentes dans la production et l'utilisation mondiale de bio-éthanol. Applied Emery. 2009;86(11):2273-2282.

[24] Velis, C.A., Longhurst, P.J., Drew, G.H., Smith, R., Pollard, S.J.T., 2019. Biodrying for mechanical–biologiques treatment of bastes : a ravie of process science and engineering. Bioressource. Technol. 100, 2747–2761.

[27] KHALIFA ANISSA. "Etude des étapes primaires de la dégradation thermique de la Biomasse lignocellulosique ", Mémoire Doctorat (2011).

[28] Lang C., 2016. Développement de catalyseurs pour la réaction de conversion du gaz à l'eau dans le cadre de la production d'hydrogène par vapogazéification de la biomasse (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg).

[30] Y. DRIDI, M.L. BENDADA. "Estimation du potentiel biomasse en Algérie ". Mémoire master, ukmo (2015)

[**33] International Energy Agency (IEA),** "Biofuels for Transport – IEA Bioenergy", 2022)

[35] Sadi M. Le bioéthanol : une véritable alternative pour une énergie propre. Recherche et Développement, Division Bioénergie et Environnement - CDER. [Date de consultation : 9 avr. 2025

[36] Falcy, M., Jargot,D., Miraval,S., Pasquier, E., Pillerai, F., Robert, S. (2019). Éthanol : Fiche toxicologique n°48. INRS.

[37] Demirbas, A. (2009). Biofuels: Securing the Planet's Future Energy Needs. Springer Science & Business Media

[39] Demirbas M.F., 2009. Biorafinerie for biofuel up grading a critical review. Appl. Energy, no86, pages 151-161.

[40] Lestari S. et al., 2009.Transforming triglycerides and fatty acids into biofuel. ChemSusChem, 2(12), pages 1109-1119.

[41] Jambo, S. A., Abdulla, R., Azhar, S. H. M., Marnai, H., Gansau, J. A., & Ravindra, P. (2016). A review on third generation bioethanol feedstock. Renewable and sustainable energy reviews, 65, 756-769. https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.064

[42] Zabed, H., Sahu, J. N., Suely, A., Boyce, A. N., & Faruq, G. (2017). Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 71, 475–501. https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.076)

[44] Riess J., 2012.intensification de la brique « fermentation alcoolique »des substrats betteraviers et autre substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. France ,177pages.

[45] Hugues P., 2015. Stratégies technologique et réglementaire de déploiement des filièresbioénergies françaises. Thèse de doctorat, École nationale supérieure des mines de paris, France ,265 pages

[46] Saidi A., 2011. La biomasse lignocellulosique et la bioénergie. Bio énergie et Environnement, no21, pages 4-5

[47] Ballerini D. ,2002. Production d'éthanol à partir de biomasse. Revue L'actualité chimique, n° 261, pages 83-87

[48] Zerouali A, Hamami H. Valorisation de la mélasse de canne à sucre (raffinerie groupe Berdache) pour la production du bioéthanol [Master's thesis]. Mostaganem (Algeria): Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie; 2021.

[49] Niju, S., Swathika, M., & Balajii, M. (2020). Pretreatment of lignocellulosic sugarcane leaves and tops for bioethanol production. In Lignocellulosic biomass to liquid biofuels (pp. 301-324). Academic Près. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815936-1.00010-1

[50] Didderen I., Destain J., Thonart P., 2008. Procédés de bioconversion en éthanol. In : Le bioéthanol de seconde génération. La production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. Gembloux, Belgique. Les Presses Agronomiques de Gembloux, pages 21-56

[51] BNDES/CGEE Coord., 2008, Bioéthanol de canne à sucre. livre énergie pour le développement durable, Rio de Janeiro, BNDES-CGEE.1ere édition ,316 pages

[52] RENA. (2016). Bioéthanol in Africa : The case for technology transfer and South-South cooperation, International Renewable Energy Agency, Abu Dhabi

[53] Alsif, A.S. (2010). Le Brésil et les biocarburants, l'internationalisation d'un enjeu Énergétique par le Sud. (Axe IX, Symposium 33). Thèse de doctorat en prévision Économiques, Ecole des Hautes Etudes en Sciences Sociales (EHESS), Toulouse.

[54] **Wirnkor, V. A., Mbohwa, C., & Taku, N. (2020).** Bioethanol production in Africa: Current status and future prospects. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 134, 110145. https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110145

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

[56] Colonna, P. La chimie verte. Ed TEC et DOC. Paris : Lavoisier,2006. 532p.

[62] Larpent. J.P. Biotechnologie des levures. Masson, Milan Barcelone Bonn. p. 97-127. (p: 11 chapiter1)(p: 14-25chapiter2) Paris: (1991).

[63] . Walker, G. M., & White, N. A. (2017). Introduction to fungal physiology. Fungi: biology and applications (pp 1-35). Kildare : Kevin Kavanagh.

[64]. Nguyen, TD. (2016). Protection de la levure Saccharomyces cerevisiae par un système biopolymérique multicouche : effet sur son activité métabolique en réponse aux conditions de l'environnement. Thèse de doctorat en Microbiologie et Parasitologie, Université de Bourgogne, AgroSup Dijon.

[66] Boze, H. Moulin,G, and Galzy, P H.-J. Rehm, and G. Reed, Production of Microbial Biomass. In Biotechnology, eds. (Wiley-VCH Verlag GmbH), (2008). pp. 166 220. Journal of Fermentation and Bio engineering 82(2):145-150

[68] Bacha, A. (2008). Production et étude de l'activité de l'invertase produite par la levure Saccharomyces cerevisiae sur substrat à base de datte. Mémoire de magister en Technologie alimentaire, Université el hadj lakhdar, Batn

[69] Flores & Gancedo, 2018 ; Guiraud & Galzy, 1998 ; LaRue & Spencer, 1967 ; Martin & Siebert, 1992 ; Saoud et al., 2017 ; Siverio, 2002).

[70] Parisé, L. (2005). Identification d'un substrat naturel de l'endoprotéase yapsine 1 de Saccharomyces cerevisiae. Mémoire de maîtrise en microbiologie, Université Laval, Québec.

[71] Oteng- Gangs K. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Technique & Documentation La voisiez, Paris. (1984) 8, (p:4 chapitre 1) .

[72] Bouix .M, Leveau J.Y. (1993) : Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intrét industrielle. ED .tec et Doc Lavoisier .pp :612.

[73] Revuz B.M., Yeast production on molasses .In: Microbiology and food industry. Tome IV.(ED)APRIA. Proceeding of the international congress, 7THto12THOctober Paris, (P: 23 chapiter 2),PP 113-121,1979.

[74] Larpent J.P ; Gourgoud M, 1985, Elément de microbiologie, Ed, Herman, Paris, p 464.

[75] Noui Y, 2001. L'optimisation de la production de la biomasse *Saccharomyces cerevisiae* cultivée sur un extrait de datte. Mémoire d`Ingénieur. Institut d`Agronomie. Université de Batna, p : 62.

[76] Bourgeois et Levreau, Bourgeois C.M. Eleveur J.Y. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, édition 2 La voiser-Tec&Doc, 3, (p:6 9 (chapitre 1) (FIGURE 03) Paris.1991

[77] Larpent JP. Les levures et leurs utilisations. Paris: Éditions Lavoisier Tec & Doc; 1992.

[81] Boucher, J., 2014. Etude des possibilités de production d'éthanol hémicellulosique dans le cadre d'une bioraffinerie papetière. Thèse de doctorat en Génie des procédés, Université de Grenoble, Grenoble.

[82] Riess, J. (2012). Intensification de la brique « fermentation alcoolique » de substrats betteraviers pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat en Génie des procédés, Université de Toulouse, Toulouse

[83] Hussenet, C. (2017). Instrumentation, modélisation et automatisation de fermenteurs levuriers à destination œnologique. Thèse de doctorat en Génie des procédés, Université Paris-Saclay, Paris.

[84] Boulal, A., Kihal, M., Khelifi, C., & Benali, B. (2017). Generation of bioethanol from common date byproducts,"Teggaza and Lebghel" in Southern Algeria. African Journal of Biotechnology,16(1), 41-50. https://doi.org/10.5897/AJB2016.15369

[85] Ould el hadj, M., Cheick, M., hamdi, W., Sayah, Z., & Bouaziz, S. (2012). Étude comparative de la production d'éthanol brut à partir de trois variétés de dattes communes (dégela Beida, tacherwit et hamraya) reparties dans les différentes classes de dattes (molle, demi-molle et sèche) de la cuvette de Ouargla (Sahara septentrional est algérien). Revue Algerian journal of arid environment, 2(2), 10-10.

[86] Fennouche, I. (2017). Production de bioéthanol à partir de résidus d'agriculture. Mémoire de Master en Génie des Procédés, Université Badji Mokhtar, Annaba.

[87] Tesquet G., 2013. Etude de la réaction de Guerbet à partir de bioéthanol sur des oxydes mixtes de type pérovskite .Thèse de doctorat. Ecole Doctorale l'Universitéde Lille1, 253 pages

[88] Rahmath A.,Siti A., Siti hajar M A.,2016.a review on third generation bioethanol feedstock, renewable and sustainable energy reviews. no 65,pages 756-769.

[89]. FromentinF., Dauriat A., Lucas H., Marchaud D., Sarlos G., 2000.Caractérisation de filière de production de bioéthanol dans le contexte helvétique. Revue l'office fédérale de l'énergie, no69809, 120 pages.

[91] Narisetty, V., Nagarajan, S., Gadkari, S., Ranade, V. V., Zhang, J., Patchigolla, K.,... & Kumar, V., 2022. "Process optimization for recycling of bread waste into bioethanol and biomethane : A circular economy approach." Energy Conversion and Management 266 : 11578

[92] Liu, Y., Han, W., Xu, X., Chen, L., Tang, J., & Hou, P., 2020. Ethanol production from waste pizza by enzymatic hydrolysis and fermentation. Biochemical engineering journal, 156, 107528.

[93] Cao XT, Pham VT, Nguyen TTNH, Nguyen TTN, Ton NTTA, Tran TT, Vu ND. Effect of fermentation conditions (dilution ratio, medium pH, total soluble solids, and *Saccharomyces cerevisiae* yeast ratio) on the ability to ferment cider from tamarillo (*Solanum betaceum*) fruit. J Food Process Preserv. 2024 ;2024 :8841207. doi:10.1155/2024/8841207.

[94] Bhadani B, Shukla B. Waste Bread-Assisted Production of Bio-Ethanol. International Research Journal of Modernization in Engineerings, Technology and Science. 2020;2(9):25–32.)

[95] González-Ramos P, et al. Physiological responses to acid stress by *Saccharomyces cerevisiae* at high initial cell density during lignocellulosic hydrolysate fermentation. Microb Cell Fact. 2016;15:123. doi:10.1186/s12934-016-1234-5.),

[96] Narisetty, V., et al. (2022). Optimized saccharification and fermentation of bread waste by Saccharomyces cerevisiae KL17, achieving 95.9% theoretical sugar conversion and 114.9 g/L ethanol with 3.2 g/L·h productivity

[97] Graves, T., Narendranath, N. V., Dawson, K., & Power, R. (2006). Effect of pH and lactic or acetic acid on ethanol productivity by Saccharomyces cerevisiae in corn mash. J Ind Microbiol Biotechnol, 33(6), 469–474.

[98] Teresa García-Martínez, Rafael A. Peinado, Juan Moreno, Isidoro García-García, Juan C. Mauricio. Co-culture of *Penicillium chrysogenum* and *Saccharomyces cerevisiae* leading to the immobilization of yeast, 2011. Journal of Chemical Technology & Biotechnology (JCTB). (86), 6, Pages 812-817

[99] Meussen Bas J , Leo H de Graaff, Johan P M Sanders, Ruud A Weusthuis, 2012. Metabolic engineering of Rhizopus oryzae for the production of platform chemicals. Appl Microbiol Biotechnol, 13; 94(4):875–886

[100] Sahlan Muhamad, Muryanto, Heri Hermansyah, Anondho Wijarnako, Misri Gozan, Kenny Lischer , Ali Ahmudi , Paksi Pujianto, 2020. Ethanol Production by Encapsulated *Rhizopus oryzae* from Oil Palm Empty Fruit Bunch. Journal of Novel Carbon Resource Sciences & Green Asia Strategy, Vol. 07, Issue 01, pp92-96

Shaohui Yang, Naibing Jia, Minggang Li, Jiehua Wang, 2021. Heterologous expression and efficient ethanol production of a *Rhizopus* glucoamylase gene in *Saccharomyces cerevisiae*, Mol Biol Rep, 38(1):59-64.

[101] Wenzhu Guo, Jianhua Yang, Tianchen Huang, Dandan Liu, Qian Liu, Jingen Li, Wenliang Sun, Xingji Wang, Leilei Zhu, Chaoguang Tian, 2021. Synergistic effects of multiple enzymes from industrial *Aspergillus niger* strain O1 on starch saccharification. Biotechnol Biofuels, 27; 14:225.

[102] H Kurosawa 1, N Nomura, H Tanaka, 1989. Ethanol production from starch by a coimmobilized mixed culture system of *Aspergillus awamori* and *Saccharomyces cerevisiae*, 5;33(6):716-23.

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

Sites électroniques

[1] Hebrew Energy Dictionnaire (2009) Biomasse secondaire. Disponible sur: **https://hebrewenergy.com/secondary-biomass (Consulté le: 26 février 2025)**

[2] Office québécois de la langue française. Biomasse secondaire \[Internet]. Vitrine linguistique ; \[cited 2025 May 9]. Available from:**[https://vitrinelinguistique.oqlf.gouv.qc.ca/fiche-gdt/fiche/8431015/biomasse-secondaire](https://vitrinelinguistique.oqlf.gouv.qc.ca/fiche-gdt/fiche/8431015/biomasse-secondaire.**

[3] Sourisse C. Biomasse et énergie : des ressources primaires aux produits énergétiques finaux [Internet]. Encyclopédie de l'énergie; 2018 Jun 13 [cited 2025 Apr. 7]. Available frome: **https://www.encyclopedie-energie.org/biomasse-et-energie-des-ressources-primaires-aux-produits-energetiques-finaux**

11] AquaPortail. Lignine : définition et explication [Internet]. AquaPortail ; [cité le 6 avril 2025]. Disponible sur : https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/4195/lignine

[12] MIT Technology Review Arabis. La biomasse [Internet]. 12 juin 2021 [cité 6 avr. 2025]. Disponible sur **: https://mittrarabia.com/technodad/الكتلة-الحيوية**

[15] Encyclopédie de l'Energie, https://www.encyclopedie-energie.org/chaines-approvisionnement-biomasse-developpement-bioenergies/

[19] Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD). Plantes et usages de la canne à sucre [Internet]. Montpellier: CIRAD; [cited 2025 May 10]. Available from: https://www.cirad.fr/nos-activites-notre-impact/filieres-agricoles-tropicales/canne-a-sucre/plantes-et-usages

[20] E-xport Rocco. Sugar cane [Internet]. Casablanca (MA): E-xport Morocco; [cité 10 mai 2025]. Disponible sur: https://e-xportmorocco.com/fr/products/1515/sugar-cane

[21] Agrimmer F. Biofuels and sustainability. Renewable Energy. 2011;36(7):1955–61..

[22] Ministère de la Transition écologique. Les biocarburants [Internet]. France: Ministère de la Transition écologique; 2023 [cited 2025 May 11]. Available from: https://www.ecologie.gouv.fr/biocarburants(France Stratégie. La biomasse agricole :

[23] France Stratégie; 2021 Jul [cited 2025 May 11]. Available from: https://www.strategie.gouv.fr/files/files/Publications/2021/0729%20biomasse%20agricole/fs-dt_-biomasse_agricole-quelles_ressources_pour_quel_potentiel_energetique-_29-07-21.pdf).

[25] Bertrand F, Mermet J, Perraudin E, et al. Modélisation chimique détaillée de la combustion de la biomasse dans les appareils de chauffage domestique en vue de réduire leurs émissions polluantes [Internet]. Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Combustion-de-la-biomasse-11_fig6_348211566]

[26] Connaissance des Énergies. Découvrez nos deux newsletters [Internet]. Paris: Connaissance des Énergies; [cited 2025 May 10]. Available from: https://www.connaissancedesenergies.org/newsletters/abonnement

[29] Wikipédia; 2024 [cited 2025 May 11]. Available from: https://fr.wikipedia.org/wiki/Fermentation

[31] https://calculeo.fr/eco-travaux/les-travaux-d-economies-d-energie/la-biomasse-qu-est-ce-que-c-est

[32] Paris: Fondation pour les Études et Recherches sur le Développement International (FERDI); [cité 2025 mai 11]. Disponible sur: https://www.connaissancedesenergies.org/fiche-pedagogique/biomass

[34] Biomotors; 2024 Oct 15 [cited 2025 Apr 9]. Available from: https://biomotors.fr/boitier-ethanol/ethanol-bioethanol-super-ethanol-e85-quelles-differences

[38] bioethanolcarburant.com; 2011 Jun 7 [cited 2025 May 28]. Available from: https://www.bioethanolcarburant.com/actualite/bioethanol-cap-sur-la-2eme-generation

[43] SlidePlayer; [cité 28 mai 2025]. Disponible sur: https://slideplayer.fr/slide/1312229

[57] Net 13 : Ann. (2011). Bioéthanol. Advantages-of-bioethanol. En ligne sur le site web http://bioethanol-np.blogspot.com/p/advantages-of-bioethanol.html, consulté le 05/05/2022

[58] Net 14: Lorecentral. (2018). Advantages and Disavantage of ethanol biofuels. En ligne https://www.lorecentral.org/2018/08/advantages-and-disadvantages-of-ethanol-biofuels.html, consulté le 05/05/2022.

[59] Net 15: Beck. (2019). Sciencing. Advantages disadvantages ethanol biofuel. En ligne sur le site web https://sciencing.com/advantages-disadvantages-ethanol-biofuel-21990.html, consulté le 06/05/2022.

[60] Nichdemus, C. O. (2017). Bioethanol : Production, Advantages, Disavantage and Environmetal Impact. Environmetal-biotechnology. En ligne https://www.biotecharticles.com/Environmental-Biotechnology-Article/BioethanolProduction-Advantages-Disadvantages-And-Environmental-Impacts-3816.html

[61] https://fr.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae

[65] Bernstein, H., Bernstein, C., 2019. Sexual Processes in Microbial Eukaryotes, Parasitology and Microbiology Research, Gilberto Antonio Bastidas Pacheco and Asghar Ali Kamboh, IntechOpen, DOI : 10.5772/intechopen.88469. Available from : https://www.intechopen.com/books/parasitology-and-microbiology research/sexualprocesses in-microbial-eukaryotes

[67] L'importance des levures au quotidien [Internet]. jakelagy.wordpress.com. [cited 2025 May 27]. Available from: https://jakelagy.wordpress.com/le-pourquoi-du-comment/

[78] **Net 08: Denig, V. (2020).** What Is Alcoholic Fermentation?. En ligne sur le site web https://www.liquor.com/alcoholic-fermentation-5086917, consulté le 04/05/2022

[79] Burillard, L ., Daumas, V., Glaz., M., Kouyoumdjian, L., Lobrot, S., Logier, D., Mallot, N., Marchand, C. (2016). Mais c'est quoi la fermentation ?. Université de Lorraine, Lorraine. En ligne https://ensaia.univ-lorraine.fr/sites/ensaia.univ lorraine.fr/files/users/telechargements/rapport_final_fermentation2.pdf, consulté le 15/04/2022.

[80] Net 09: Whisky. (2022). la fermentation alcoolique- valour+lemaire. En ligne sur le site web HTTPS://WWW.VALOUR-LEMAIRE.COM/BLOG/LA-FERMENTATION ALCOOLIQUE/#, consulté le 04/06/2022

[90] Novak, M.H., Valorisations non alimentaires des coproduits de la transformation de la Betterave sucrière http://www.valbiom.be/files/gallery/valorisationbetteravesucriere1196164806.pdf. 01/05/2017

Annexes

Annexe 1

Préparation des solutions

A) Solution PDB normale

- Faite bouillir 250 g de pomme de terre tranchée non pelées dans 500 ml d'eau distillée pendant 20 min.
- Filtrer à travers une Passoire, économisant l'effluent, qui est une infusion de pommes de terre.
- Ajouter 10 g d'amidon.
- Ajuster le volume à 1 litre.
- Ajuster le pH à 5,5.
- Autoclave 10 minutes à 110°C

B) La solution d'HCl (0.1N)

Pour préparer une solution de (0.1N) d'un volume V_f, réaliser une dilution à partir d'une

Solution mère pure (12N) selon la loi de dilution NmVm=Nf Vf.

C) La solution de stockage (0.1N)

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

D) La solution de dosage (0.001N)

- Diluer 1ml de solution de stockage à 100 ml avec l'eau distillée (Dilution 1/100).
- Conserver la solution de dosage dans un flacon en verre fumé sombre bien fermé

E) Solution d'iodine (0.05 N)

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

F) Solution de NaOH (1N)

- Dissoudre 1g d'hydroxyde de sodium dans une fiole de 25ml.
- Ajuster le volume à 25ml par l'eau distillée.

G) Solution de NaOH (0.01N)

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

H) Solution de phénolphtaléine

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

Annexe 2

Courbes d'étalonnages

A) Dosage de l'éthanol

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

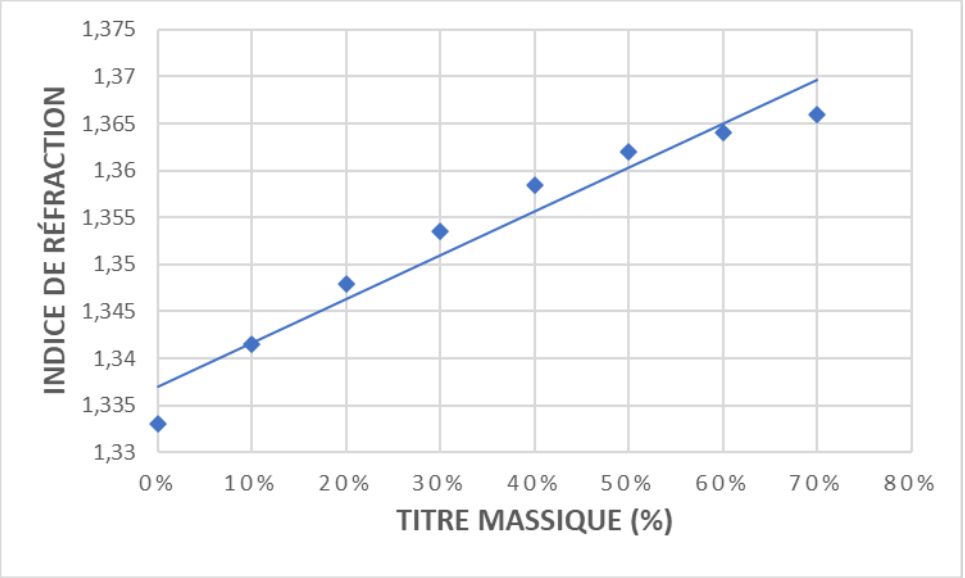


Fig.1. Courbe d'étalonnage destinée au dosage de l'éthanol par mesure de l'indice de réfraction

B) Dosage sucre totaux :

- Préparer une gamme de solutions étalons allant de 0 à 0,9 g.l-1 de glucose,
- Déposer 0.1 ml de chaque solution étalon.
- Ajouter 1 ml d'une solution de phénol à 5%

- Homogénéiser
- Ajouter délicatement 5 ml d'H_2SO_4 concentré (95%) : Attention au dégagement fort de la chaleur.
- Laisser 5 min dans un bain marie bouillant.
- Attendre 30 min à température ambiante.
- Lire la DO à 492nm. La couleur est stable pendant plusieurs heures. La courbe d'étalonnage obtenue est représentée sur la figure 2

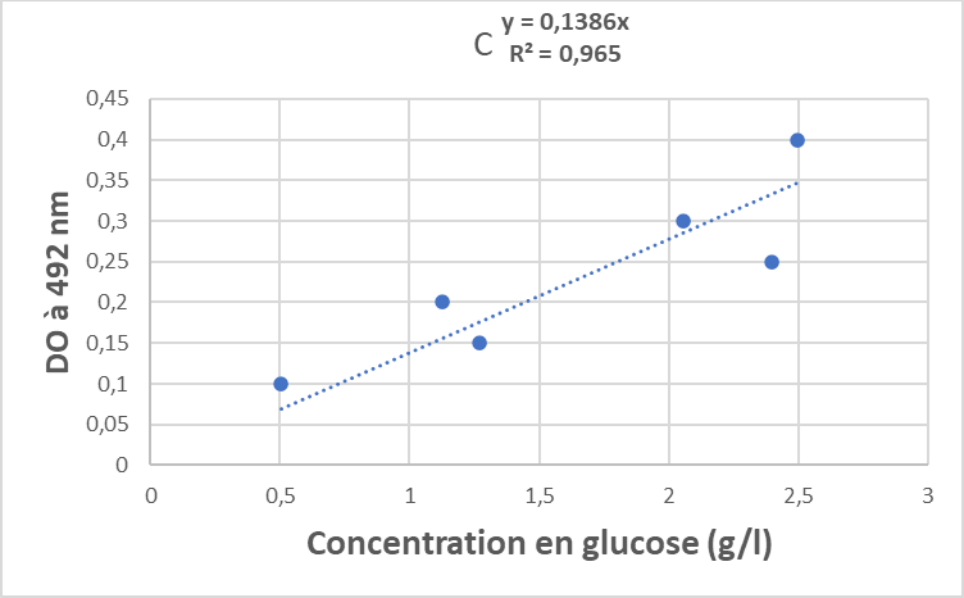


Fig. 2. Courbe d'étalonnage destinée au dosage de glucose par spectrophotométrie