REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRMINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHI FARES DE MEDEA

FACULTE DE TECHNOLOGIE

Mémoire de fin d'études de Master

Filière : Génie des procédés pharmaceutiques

Spécialité : Génie des procédés pharmaceutiques

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

Présenté par :

SADFI NAIMA
KHELIL CHERFI ZINEB

Devant le jury :

Pr. ABOUSSEOUD Mahmoud : Président.

Dr. ARBIA Wassila : Examinatrice.

Dr. TASSIST Amina : Promotrice.

Promotion 2020-2021

Remerciements

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

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

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

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

-Madame**ARBIA Wassila** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.
-Nous remercions tous **le directeur du Hall technologique** de mettre à notre disposition lesmoyens et les produits nécessaires pour accomplir ce travail.

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

Dédicace

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

Mes chers parents pour leur confiance, sacrifices et efforts.

Mes chères sœurs : Hajer, meriem , pour leur compréhension et encouragement.

A mon compagne de ma vie. Mon mari inchaa ellah Bilal.

Les familles SADFI et TAIBI.

Mes chères amies Aya, Houda, Bouchra, et Lamia ,pour tous les moments que nous avons partagé durant les années d'étude et amitié .

A mon binôme : zineb

Tous les étudiants de la spécialité Génie des procédé pharmaceutique(GPP), Master2 « promotions 2020/2021 ».Tous ceux qui connaissent Naima de près ou de loin.

Naima..

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents, à ma petite famille et à ma grande famille.

Mes chères amies Aya yasmine , Amira et Ikram pour tous lesmoments que nous avons partagé durant les années d'étude et amitié .

Zineb...

ملخص

يهدفهذاالعملإلىإنتاجالإيثانولالحيويمننشاقشورالبطاطسالطازجة. يخضعهذاالإنتاجللمعالجةالحرارية (عند 130 درجةمئويةلمدة 15 دقيقة) متبوعًابالطحنثمالتسييلالأنزيميبواسطةألفاأميليز،والتكسيربواسطةجلوكوأميليزوالتخميرباستخدام Saccharomyces cerevisiae. يحدثالتسييلبواسطة BAN-alpha-amylase 55 فيغضونساعتينعند أياكانالحمل (50 MF جم / CEIP جممنالنشايعادل 18 / E / S = 300CEIP درجةمئوية،ودرجةالحموضة = 6 ،ونسبة القابللللحرارة،تكونمدةالتحللالمائيمن 30 alpha-amylase مل). باستخدام 100 / MF ، 100 ، 150 ، 200 جم و (33 مجم / MF) دقيقةإلىساعةواحدةتحتنسبةالإدخال / الإخراجالمثلىبين (25 مجم / جممنالنشا؛ 1.5 مجم / جم 50 = T ° درجةمئوية. نتجعنالتسكر (عنددرجةالحموضة 4 ، 85 = T ° عند (MF جممنالنشا، 2 مجم / جم مسال). أدىالتخمير MF درجةمئوية،لمدة 3 ساعات) إنتاجية (88٪ و 95٪) للنسبة 0.83 جم / جمنشامسال (50 مجم / جم ،الرقمالهيدروجيني = [4 و 5]) إلىمستوىأقصىمنالإيثانول 74 جم / لترمعائد 0.58 جممنالإيثانول / جم T ° (المحيط

الكلماتالمفتاحية: الإيثانولالحيوي،البطاطس،التسييل،التخمير،خميرةالخمير

Réumé :

Ce travail a pour objectif la production de bioéthanol à partir de l'amidon des épluchures pomme de terre fraiche. Cette production passe parun prétraitement thermique (à 130°C pendant 15min) suivi d'un broyage puis une liquéfaction enzymatique par l'alpha amylase, une saccharification par la glucoamylase et une fermentation à l'aide de *Saccharomyces cerevisiae.*La liquéfaction par la BAN-alpha-amylase s'effectue en 2h à 55°C, un pH=6, un rapport E/S= 300CEIP/ g d'amidon équivalent à 18CEIP/g MF quelque soit la charge (50, 100, 150, 200g MF/100ml). En utilisant l'alpha-amylase thermostable, la durée de l'hydrolyse est de 30min à 1h sous un rapport E/S optimal située entre (25 mg/g d'amidon ; 1,5 mg/g MF) et (33 mg/g d'amidon, 2 mg/g MF) à T°= 85°C. La Saccharification (à pH4, T°=50°C, durant 3h) a aboutis à des rendements de (88% et 95%) pour le rapport0,83 g/g amidon liquéfié (50mg/g MF liquéfiées). ***La fermentation (T°****ambiante, pH =[4 et 5]) a aboutit à un taux maximal d'éthanol 74g/l avec un rendement de 0,58g d'éthanol /g**.*

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

Summary

This work aims to produce bioethanol from the starch of fresh potato peels. This production goes through thermal pretreatment (at 130 ° C for 15min) followed by grinding and then enzymatic liquefaction by alpha amylase, saccharification by glucoamylase and fermentation using Saccharomyces cerevisiae. Liquefaction by BAN-alpha-amylase takes place in 2 hours at 55 ° C, a pH = 6, an E / S ratio = 300CEIP / g of starch equivalent to 18CEIP / g MF whatever the load (50, 100 , 150, 200g MF / 100ml). Using thermostable alpha-amylase, the duration of hydrolysis is 30min to 1h under an optimal I / O ratio between (25 mg / g starch; 1.5 mg / g MF) and (33 mg / g of starch, 2 mg / g MF) at T ° = 85 ° C. Saccharification (at pH4, T ° = 50 ° C, for 3 hours) resulted in yields of (88% and 95%) for the ratio 0.83 g / g liquefied starch (50 mg / g MF liquefied). Fermentation (ambient T °, pH = [4 and 5]) resulted in a maximum level of ethanol 74g / l with a yield of 0.58g of ethanol / g.

The key words: Bioethanol, Potato, liquefaction, fermentation, Saccharomyces cerevisiae.

Sommaire

Introduction Générale……1

Partie Bibliographique

I. Généralités sur la gestion des déchets en Algérie……4

I.1. Les déchets ménagers et assimilés……4

I.2. Les déchets industriels……..5

II. Généralités sur les biocarburants……5

II.1. Définition des biocarburants……..……5

II.2. Types de biocarburants……..……..6

II.3. Générations de Biocarburants……..…6

II.3.1. Les biocarburants de 1ère génération (ou conventionnels) ……6

II.3.2. Les biocarburants de 2ème génération (les biocarburants avancés) ……..7

II.3.3. Les biocarburants de 3ème génération.……7

II.4. Les avantages et inconvénients des biocarburants……....8

III. Production de bioéthanol par fermentation alcoolique…….……8

III.1. Le Bioéthanol…….……8

III.1.1. Généralités……...……..……8

III.1.2. Propriétés physiques…….…..9

III.1.3. Propriétés chimiques…….……..9

III.1.4. Utilisation du bioéthanol……...……...……10

III.1.5. Avantages liés à l'utilisation du bioéthanol……...…….....11

III.2. Sources et matières premières…….……11

III.2.1. Résidus de pommes de terre : matière première intéressante……...…12

III.2.2. L'amidon (Structure et propriétés) ……...……13

A. Propriétés hydro-thermiques de l'amidon……15

B. Les réactions de transformation enzymatique de l'amidon……..……..……..15

III.3. Microorganisme producteur *: Saccharomyces cerevisiae,* Caractéristiques……17

III.3.1. Définition……..……17

III.3.2. Historique de l'usage de Saccharomyces *cerevisiae*……17

III.3.3. Métabolisme……...……..17

III.3.4 Influence des paramètres environnementaux sur le Métabolisme de la levure…….19

III.4. Etapes de production du bioéthanol à partir des plantes amylacées……20

III.4.1. Prétraitement ou Hydrolyse……..20

III.4.2. La fermentation alcoolique……..…...…….21

III.4.3 Récupération et purification des produits de fermentation……..……22

Partie expérimentale

I-Matériels……24

I.1 Verreries etpetitmatériel……24

I.2 Réactifs, produits et solutions……24

I.3 Equipements……24

I.4 Matériel biologique……25

II. Méthodes Résultat et Discussion……25

II.1 Caractérisation de la pomme de terre……25

II.2 Test de l'activité alpha-amylase……27

II.3 Liquéfaction de l'amidon de pomme de terre……31

II.3.1. Attaque par la BAN- Alpha amylase……31

a) Historique……31

b) Objectif……32

c) Effet de la concentration d'enzyme (Optimisation du rapport E/S)……...…..33

d) Effet de la concentration du substrat (catalyse en milieux concentrés)……...……35

e) Effet du temps de cuisson sous pression……...……37

f) Cuisson sans pression (A 100°C) : Effet du temps de cuisson……..……38

II.3.2. Attaque par une Alpha amylase thermostable…….……..40

a) Essais préliminaires…….……40

b) Optimisation du rapport E/S……44

c) Liquéfaction en milieu concentré……48

II.4 Saccharification……50

II.4.1. Influence de la concentration de la gluco-amylase……...…50

II.4.2. Saccharification en milieu concentré pour le rapport E/S optimal …….……52

II.5 Fermentation et séparation de l'éthanol.……54

II.6 Analyse de l'éthanol récoupéré……..58

Conclusion général.…….……..61

Listedesabréviations

α	Alpha
β	Beta
C	Carbone
CEIP	Centre d'Évaluation et d'information de la pharmacodépendance
C0	Concentration Initiale
[ ]	Concentration
Km	Constante de Michaelis
°C	Degré Celsius
h	Heure
H	Hydrogène
IR	Indice de réfraction
m	La masse
MF	Matière fraiche
min	Minute
µm	Micro-mètre
op	Optimale
O	Oxygène
pH	potentiel d'hydrogène
R	Rendement
SC	*Saccharomyces cerevisiae*
S	Substrat
T	Température
V_{max}	Vitesse maximale
v	Volume

Liste des tableaux

TableauI.1	Les principaux avantages et inconvénients des biocarburants.	**8**
Tableau I.2	Les caractéristiques physiques de l'éthanol.	9
Tableau I.3	Composition non glucidique et teneur en amylose de l'amidon de pomme de terre.	13
Tableau I.4	Variation des teneurs en amylose et amylopectine selon l'origine botanique.	14
Tableau I.5	Plage de gélatinisation de l'amidon en fonction de son origine.	15
Tableau I.6	Propriétés de quelques alpha amylases.	16
TableauII.1	Parametres cinétiques tirés à partir des linéalisations de lineweaver-burk et Eadie Hofste.	30

Listes desfigures

Figure I.1 : Modes de traitement des déchets ménagers en Algérie……4

FigureI.2 : Structure de la molécule d'éthanol……..8

Figure I.3 : Filières de production du Bioéthanol……12

Figure I.4 : Structure chimique de (a) unité de glucose, (b) amylose, (c) amylopectine…….14

Figure I.5 : Schéma de la glycolyse……18

Figure I.6 : Transformation du pyruvate en éthanol……19

Figure I.7 : Procédé de production du Bioéthanol à partir des plantes……...21

Figure I.8 : Fermentation du glucose issus de l'hydrolyse de l'amidon en éthanol…….21

Figure II.1 :Composition des épluchures de la pomme de terre……26

FigureII.2:Cinétique de dégradation de l'amidon par la BAN α-amylase à pH6,T°=55°C……28

Figure II.3 : Courbe de saturation : Evolution la vitesse initiale (Vi) de l'alpha-amylase en fonction de la concentration initiale en amidon……28

Figure II.4 : Représentation graphique de la linéarisation de lineweaver-burk……29

Figure II.5 : Représentation graphique de la linéarisation d'EadieHofstee……30

Figure II.6 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à30gd'amidon/ldisperséesà 130°C pour différentsrapports E/S……...34

Figure II.7 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches dispersées à 130°C avec un rapports E/S =300 CEIP/g d'amidon en milieux concentrés……36

Figure II-8 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon /l)disperséesà 130°C à différentsle temps de cuisson……..38

Figure II-9 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à200g MF/100ml (120g d'amidon /l)cuite à 100°C à différentstemps de cuisson……..…..…39

Figure II-10 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon/l) non traitées thermiquent en utilisant une alpha-amylase thermostable (sur une plaque chauffante)…….……41

FigureII.11 : Montage bain marie…….……..……42

FigureII.12 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon/l) non traitées thermiquent en utilisant une alpha-amylase thermostable (En montage bain marie*)*…….……42

FigureII.13 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon/l) traitées thermiquent en utilisant une alphaamylasethermostable(Enmontagebainmarie)……..……
…….…..…43

Figure II.14 : Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/l dispersées sous pression et traitées par l'alpha-amylase thermostable

entre(5mg et100mg).(T°=85°C)……..…….....…45

Figure II.15 : Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/l dispersées sous pression et traitées par l'alpha-amylase Thermostable entre(5mget100mg), (T°=90°C) ……..……..……46

Figure II.16: Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/l dispersées sous pression et traitées par l'alpha-amylase …….…….……47

thermostable entre(150mget250mg).(T°=85°C90°C)…….……..……47

Figure II.17 : Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 60g d'amidon/l (100g MF/100ml) dispersées sous pression et traitées par l'alpha amylase thermostableauxoptimaE/S……..…
…….……49

Figure II.18 : Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 120g d'amidon /l(200g MF/100ml) dispersées sous pression et traitées
parl'alphaamylasethermostableauxoptimal
E/S…….……..……49

Figure II.19 : Saccharification des épluchures de pomme de terre (50g MF/100ml), traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en variant La concentration de la glucoamylase……51

Figure II.20 : Rendement de saccharification des épulchures de pomme de terre (50g MF/100ml), traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en variant le rapport E/S……52

Figure II.21: Saccharification des épluchures de pomme de terre (100g MF/100ml, 150g MF/100ml, 200g MF/100ml) traitées thermiquement, Broyées et liquéfiées en utilisant de la glucoamylase au rapport E/S optimal……53

Figure II.22 : Montage de distillation……55

Figure II.23 : Résultats de la fermentation……57

Figure II.24 : Résultat de la révélation d'un distillat au bichromate de potassium……58

Figure II.25 : Résultat du flambage du distillat……59

Figure II.26 : Résultat test de la sensibilité bactérienne vis-à-vis d'un distillat……59

Introduction générale

Introduction générale

Les énergies fossiles telles que le charbon, le gaz et le pétrolesont limitées et non renouvelables. Elles nécessitent plusieurs millions d'années de formation, ce qui signifie qu'elles commencent à devenir une ressource rare dans les prochaines années. Leurs coûts sont donc de plus en plus élevés avec l'augmentation de la demande en énergie. De plus, l'usage des carburants fossiles entraîne le réchauffement climatique qui est principalement causé par l'émission de gaz à effet de serre lors de la leur combustion.

Les énergies renouvelables (éolien, solaire, hydraulique, biomasse) constituent un ensemble de solutions puisqu'elles permettent de réduire la dépendance vis-à-vis du pétrole et la pollution de notre environnement (moins de production de gaz à effet de serre)**(Didderen. I et al., 2008)**

Les activités agricoles et agro-industrielles génèrent des quantités importantes de déchets qui constituent une nuisance certaine pour l'environnement et une perte de matière recyclables.

De nombreuses études ont démontré que ces déchets, riches en matières organiques étaient des produits nobles et constituaient de nouvelles matières pour de nombreuses industries, **(Acourene.S, et Ammouche.A,2012)**on parle alors de matière première secondaire .

A titre l'exemple, ces déchets sont utilisés dans laproduction d'éthanol en raison de leur abondance, de leur disponibilité, de leur biodégradabilité, de leur richesse en carbone et de leur contenu nutritif (**Gassara. F et al., 2010)**.

L'amidon est le composé organique d'origine végétale le plus abondant après la Cellulose. Les principales sources en sont les céréales, racines et les tubercules (telles que la pomme de terre). L'utilisation alimentaire de ces produits amylacés génère des résidus qui sont le siège de phénomènes de fermentations et qu'on retrouve principalement au niveau des sols des moulins (son de maïs), des ateliers de production de Gari (résidus de manioc) et les drèches de l'industrie brassicole **(Bertrand, 2009).**

Actuellement, la pomme de terre constitue une matière première alternative au maïs et betteraves pour la production d'éthanol. Elle représente la première culture en Algérie du point de vue superficie et production, ce qui engendre de grandes quantités de déchets riche

en amidon. Ces déchets proviennent de l'agriculture, de la consommation humaine (déchets ménagers, des restaurants publiques, universitaires et hospitaliers...) mais aussi de l'industrie de transformation de la pomme de terre (industries des chips, fabrication des purées, ...).

L'objectif de ce travail est de produire le bioéthanol à partir des épluchures de pommes de terrecomme biomasse par fermentation alcooliqueen utilisant *Saccharomyces cerevisiae* comme microorganisme producteur. Nous nous sommes intéressés à l'optimisation :

- des quantités d'enzymes ajoutées pour le traitement enzymatique de ce substrat (saccharification et liquéfaction).
- de la concentration des milieux réactionnels en amidon,
- du temps de cuisson de ces épluchures

Les épluchures liquéfiées et saccharifiée dans les conditions optimales subissent une fermentation en utilisant *Saccharomyces cerevisiae*. L'optimisation de l'étape de traitement physique et enzymatique permet d'obtenir un substrat fermentescible donnant un rendement maximal de production au cours de la fermentation et un procédé économiquement rentable.

La première partie de ce mémoire s'appuie sur une étude bibliographique qui s'intéresse à la gestion des déchets en Algérie, aux biocarburants, et à la Production de bioéthanol par fermentation alcoolique. La deuxième partie qui est la partie expérimentale s'intéresse à la présentation des matériels, des méthodes expérimentales et des techniques analytiques utilisées dans ce travail avec interprétation et discussion des résultats obtenus. Le travail est finalisé par une conclusion résumant les principaux résultats et les perspectives proposées dans le but de développer le sujet.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur la gestion des déchets en Algérie :

I.1. Les déchets ménagers et assimilés :

En Algérie, à l'instar des autres pays du monde, la production des déchets ne fait qu'augmenter. La croissance démographique, l'urbanisation de plus en plus forte et les transformations socio-économiques que connaît le pays ces dernières années ont été accompagnées par des changements notables au niveau des quantités de déchets produits.

La loi 01-19 du 12 décembre 2001 relative à la gestion, au contrôle et à l'élimination des déchets définit le cadre général du contrôle et de l'élimination des déchets et consacre les principes d'une gestion rationnelle et saine des déchets et l'ensemble des activités qui s'y rapportent notamment la collecte, le transport, le tri, la valorisation et le traitement.

La production globale des déchets industriels (y compris les déchets industriels banals) est évaluée à 2 547 000 tonnes/an avec une quantité en stock de 4 483 500 tonnes. Les déchets spéciaux générés sont de l'ordre de 325 100 T/an. Les quantités de déchets stockés en attente d'une solution d'élimination sont de l'ordre de 2 008 500 tonnes**.(ONS ,2012).**

Parmi les déchets solides générés en Algérie, les déchets ménagers et assimilés (DMA) représentent la fraction la plus importante avec environ 11 millions de tonnes/an (2014). La maîtrise de leur composition est donc nécessaire pour évaluer au préalable leur potentiel risque pour le milieu récepteur et le choix du mode de traitement le plus optimal.**(AND,2014).**

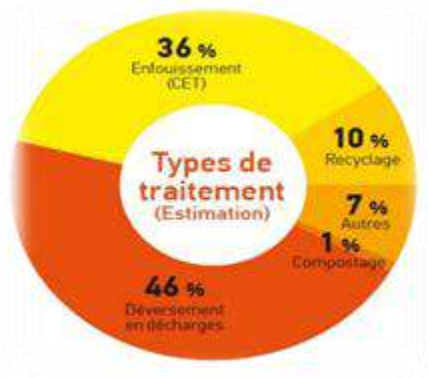


Figure I.1 : Modes de traitement des déchets ménagers en Algérie (AND, 2014)

I.2.Les déchets industriels :

L'activité industrielle en Algérie est diversifiée. Les activités les plus importantes, du fait de leur taille et de leur impact sur l'environnement sont l'industrie agroalimentaire, l'industrie du textile, le tannage du cuir, l'industrie automobile, l'industrie métallurgique, imprimerie, l'industrie chimique,le traitement de surface, cimenterie. L'activité industrielle se déroule principalement autour des grandes agglomérations urbaines et le long des côtes.

Les principaux problèmes environnementaux générés par ces entreprises sont :

- Utilisation excessive d'eau et d'énergie dans les process.
- Perte importante de matière première dans la production.
- Importante quantité d'eaux usées générées et non traitées.
- Rejets atmosphériques souvent non contrôlés.
- Mauvaise gestion des déchets.

Les déchets agroalimentaires (dont ceux de l'industrie de pomme de terre) sont de plus en plus croissants, polluants et couteux à gérer. Les principales formes de pollution sont les suivantes :

- Pollution hydrique due aux eaux de procédés, eau de nettoyage, etc. Ces rejets sont, de leur origine, riches en matières organiques et renferment des acides aminés, des sucres et des hydrates de carbone, des graisses animales et végétales, des acides organiques, des alcools et des aldéhydes et cétones, sous forme originelle ou modifiée suite à la fermentation, etc.
- Déchets solides.

Selon **l'AND**, les quantités des déchets industriels alimentaire sont estimées à 2,5 millions de tonnes par an, alors que le taux de récupération ne dépasse pas les 7**% (AND,2014).**

II. Généralités sur les biocarburants :

II.1. Définition des biocarburants :

Les biocarburants sont des sources énergétiques non fossiles issues des matériaux biologiques. Quel que soit la forme des biocarburants (solide, liquide, ou gazeuse), il est clair que c'est une énergie durable, et renouvelable puisqu'elle est d'origine végétale et animale, et donc elle peut être remplacée après une courte période **(Scragg Alan.H,2009).**

II.2. Types de biocarburants (ADEME ,2005) :

Selon la composition chimique du biocarburant, nous avons :

• Bioéthanol : éthanol produit à partir de la biomasse et/ou de la partie biodégradable des déchets et destiné à être utilisé comme biocarburant.

• Biodiesel : ester méthylique produit à partir d'huile végétale ou animale,de qualité diesel et destiné à être utilisé comme biocarburant.

• Biogaz : gaz carburant produit à partir de la biomasse et/ou de la partiebiodégradable des déchets qui peut être purifié pour atteindrela qualité du gaz naturel.

• Biométhanol : méthanol produit à partir de la biomasse (biogaz) et destiné à être utilisécomme biocarburant.

• Bio-ETBE :Éthyl Tertio Butyl Éther, produit sur la base de l'éthanol. Le pourcentage en volume de bio-ETBE considéré commebiocarburant est de 47 % (énergie à 47 % renouvelable).

• Bio-MTBE : Méthyl Tertio Butyl Éther, produit sur la base de méthanol. Le pourcentage en volume de bio-MTBE considéré comme biocarburantest de 36 % (énergie à 36 % renouvelable).

• Biocarburants de synthèse : hydrocarbures de synthèse ou mélange d'hydrocarbures de synthèseproduits à partir de la biomasse.

• Huile végétale pure : huile produite à partir de plantes oléagineuses (colza, tournesol,Palme…) et permettant de créer de l'EMHV (Ester Méthylique d'HuilesVégétales) pour les véhicules diesel**.**

II.3. Générations de Biocarburants :

II.3.1. Les biocarburants de 1ère génération (ou conventionnels) :

Issus de la transformation des plantes habituellement cultivées à des fins alimentaires**(IFPEN, 2021.site 01)** :

- Céréales, maïs, béttraves et cannes à sucre ... pour le bioéthanol,
- Colza, tournesol, arachide, soja.... pour le biodiesel.

Le biodiesel par exempleest obtenu à partir de plantes oléagineuses (colza, tournesol, soja...) ou de graisses animales ou d'huiles alimentaires. Il est obtenu par L'estérification, c'est-à-dire la transformation des corps gras en esters méthyliques d'acides gras (EMAG) par une réaction chimique de transestérification en présence d'un catalyseur.

Cette technologie permet de produire à partir d'une tonne d'huile et 110 kg de méthanol, 970 kg de biodiesel et 108 kg de glycérine **(Sall.H,2007)**.

Mais ces biocarburants conventionnels ne peuvent être produits qu'en quantité limitée, dans la mesure où ils sont issus de ressources alimentaires. Depuis 2015, l'Union européenne a décidé de fixer un seuil d'incorporation maximal de 7 % dans les carburants. De nouvelles matières premières ont donc été recherchées, aboutissant à des biocarburants avancés **(IFPEN, 2021)** .

II.3.2. Les biocarburants de 2ème génération (les biocarburants avancés):

Issus principalement de la transformation de la lignocellulose contenue dans les résidus agricoles (paille) et forestiers (bois), ou dans des plantes provenant de cultures dédiées (taillis à croissance rapide). Les nouveaux procédés cherchent à améliorer le bilan énergétique en utilisant toute la plante. Pour cela, les résidus de sylviculture, les déchets organiques, des cultures comme la luzerne ou le miscanthus sont exploités. Ces procédés permettraient en outre de limiter le problème d'usage des surfaces agricoles, d'exploiter un éventail de culture beaucoup plus large que celui de la gamme alimentaire et d'obtenir de meilleurs bilans énergétiques et environnementaux que la première génération **(Ballerini. D,2006).**

II.3.3. Les biocarburants de 3ème génération :

Ils sont obtenus à partir des micro-algues. La biomasse de ces dernières est convertie en bioéthanol (à partir des sucres), en biodiesel (à partir des lipides) ou en hydrocabures (Biogazol et Biokérosène) par voie thermochimique **(IFPEN, 2021. Site 01)**. L'hydrogène est aussi produit par ces micro-organismes : lorsque l'algue *Chlamydomonas reinhardti* est privée de soufre, la photosynthèse diminue et elle met en place une autre voie énergétique : la production d'hydrogène. On peut cultiver les micro-algues avec deux procédés différents : l'utilisation de photo-bioréacteurs ou de bassins extérieurs. Les rendements prévus sont 3 à 30 fois supérieurs aux espèces oléagineuses (notamment car le taux de photosynthèse est plus important). Les biocarburants de 3ème génération sont un enjeu énergétique important **(Touati. L, 2013)**.

II.4. Les avantages et inconvénients des biocarburants :

Les principaux avantages et inconvénients des biocarburants se résument sur le **tableau 1** :

Tableau I.1: Les principaux avantages et inconvénients des biocarburants (Touati.L, 2013)

LES AVANTAGES	LES INCONVENIENTS
- Renouvelables - Limitent les émissions de gaz à effet de serre (GES) et les consommations d'énergie non renouvelable. - Emettent moins de polluants tels que le soufre (à l'origine des pluies acides), les suies, les particules fines. - Ils permettent de diversifier les sources de production d'énergie et de réduire la dépendance à l'or noir et de valoriser des ressources domestiques.	- L'augmentation de la demande en biocarburants a eu pour conséquence le renchérissement des cours mondiaux des céréales et des oléagineux. - Ils sont gourmands en énergie, coûteux à cultiver, à collecter et à transformer. - ils instaurent une concurrence redoutable entre cultures énergétiques et cultures alimentaires. - Le développement des biocarburants issus de cultures énergétiques peuvent être une menace pour les écosystèmes et les puits

III. Production de bioéthanol par fermentation alcoolique:

III.1.Le Bioéthanol :

III.1.1. Généralités :

L'éthanol (EtOH), ou encore alcool éthylique, molécule de formule développée C2H5OH comporte deux atomes de carbone liés (C), l'un portant trois atomes d'hydrogène (H), l'autre deux atomes d'hydrogène et une fonction hydroxyle (OH) ***(moss G.P.al 1996)*****(Figure I.2).**

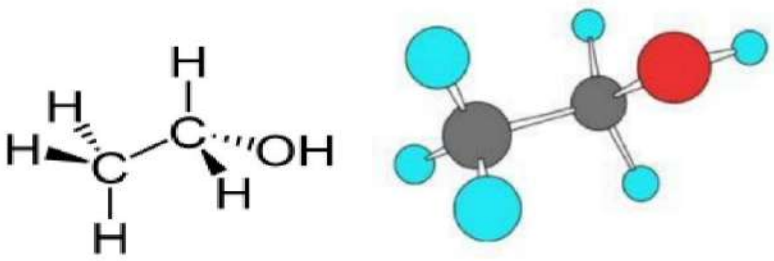


Figure I.2 : Structure de la molécule d'éthanol (moss G.P.al 1996)

III.1.2. Propriétés physiques :

L'éthanol est un liquide mobile, incolore, volatile, d'odeur plutôt agréable, décelable dès 84 ppm. L'éthanol est miscible à l'eau, le mélange se faisant avec dégagement de la chaleur et contraction de liquide : un volume d'éthanol + un volume d'eau donnent 1,92 volume de mélange. Par contre il y a expansion de liquide lorsque l'éthanol est mélangé avec l'essence. L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels. C'est un bon solvant des graisses et il dissout de nombreuses matières plastiques. Les principales caractéristiques physiques de l'éthanol sont représentées sur le **(tableau I.2)** (**INRS, 2007).**

Tableau I.2 : Les caractéristiques physiques de l'éthanol (INRS, 2007).

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

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

III.1.3. Propriétés chimiques :

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

III.1.4. utilisation du bioéthanol :

- **Carburant :**

L'idée d'utiliser l'éthanol comme carburant a été conçue par Henry Ford, quand il développait sa première automobile. Aux États-Unis, l'utilisation du mélange EssenceEthanol a débuté vers la fin des années 1970, et a contribué à réduire les émissions dumonoxyde de carbone tel que requis par le « Clean Air Act » de 1990. Le Brésil est aussi un des grands utilisateurs de l'éthanol en ce qui concerne le carburant automobile. L'éthanol peut également être utilisé comme carburant de fusées et d'avions légères. **(Hugues, 2015; Daho, 2008)**.

- **Boissons alcoolisées :**

L'éthanol est le principal constituant psycho-actif que l'on trouve dans les boissons alcoolisés, avec des effets sur le système nerveux. La majorité des boissons alcoolisés sont soit fermentés, soit spiritueuses. Dans les boissons fermentées, il ya les bières, les vins et les cidres. Les boissons spiritueuses telles que le Whiskey sont produites par distillation des boissons fermentées **(Birckel, 2011)**.

- **Matière première :**

L'éthanol est considéré comme un produit chimique de base pour d'autres composés organiques. On l'utilise pour la préparation des amines, des esters éthyliques, des halogénures d éthyle.**(kacimi,2008)**.

- **Antiseptique :**

L'éthanol est utilisé dans le domaine médicale comme antibactérien, antifongique, antiviral et comme solution de lavage pour les mains **(Rhayour, 2002)**

- **Solvant :**

L'éthanol se mélange avec l'eau et peut être un bon solvant. On le retrouve dans l'industrie des parfums, des matières colorantes et dans l'industrie des peintures et des vernis. **(Khan, 2010)**

- **En médecine :**

Auparavant, l'éthanol permettait de traiter le problème de la dépression et comme anesthésique **(Rassaert, 2012)**.Actuellement, on utilise l'éthanol pour provoquer la nécrose dans les tumeurs. L'éthanol permet de traiter l'intoxication au méthanol et éthylène glycol. **(Rhayour, 2002)**.

III.1.5. Avantages liés à l'utilisation du bioéthanol :

Le Bioéthanol a permis aux pays importateurs du pétrole brut :

• de réduire la dépendance vis-à-vis des sources d'énergie étrangères,

• d'améliorer la balance des paiements du pétrole importé,

• de faire face aux embargos et les Chocs pétroliers (de 1974 et 1979 par exemple), ce qui a permis de surmonter les périodes des Guerres (Guerre du Golfe,…etc.).

De plus le Bioéthanol permet aussi :

• de promouvoir le développement social et économique durable,

• de diversifier les activités agricoles,

• de créer et maintenir des emplois

• de réduire l'impact environnemental (lié aux émissions de CO2 à effet de serre).

En contrepartie l'installation de projets de production du bioéthanol au niveau les pays Producteurs du pétrole devient une nécessité pour le futur proche avec l'épuisement des sources pétrolières naturelles **(Ben chaabane. F,2006)**

III.2. Sources et matières premières :

Le bioéthanol est le produit de la fermentation alcoolique (ou éthanolique) des fruits, des céréales, des végétaux riches en sucres et des tubercules (telle que la pomme de terre) (**Demirbas, 2007).** Lorsqu'il est produit à partir des plantes sucrières (béttraves, cannes à sucre), et des plantes amylacées (blé, maïs, pomme de terre) on parle bioéhanol de 1ère génération ou de Bioéthanol conventionnel **(Figure I.3)**.

Le bioéthanol avancé (2ème Génération) utilise une matière végétale, dite lignocellulosique : résidus agricoles, déchets forestiers, cultures dédiées comme le miscanthus. Enfin, le bioéthanol de 3ème génération est issus d'algues **(IFPEN, 2021.site 01) . (Figure I.3)** .

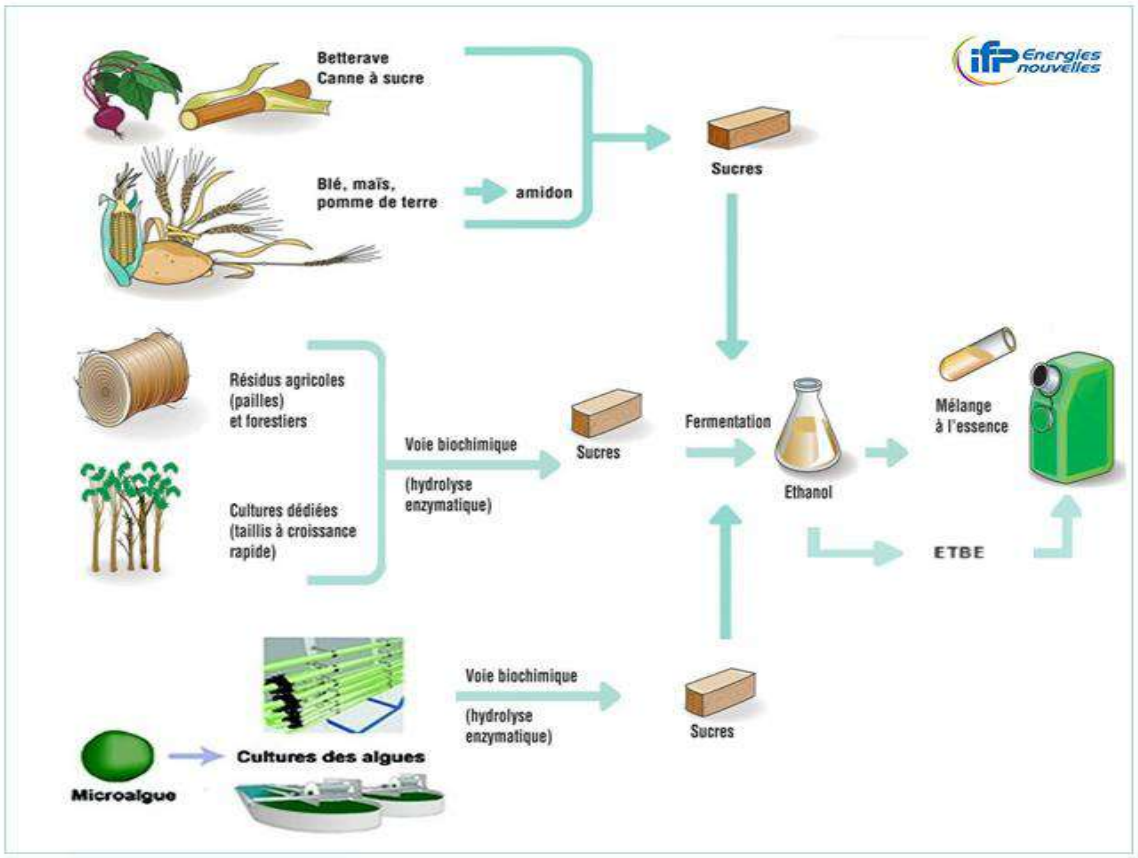


Figure I.3: Filières de production du Bioéthanol (IFPEN, 2021.site 01)

III.2.1. Résidus de pommes de terre : matière première intéréssante :

La production de bioéthanol de 2ème génération à partir des résidus de la pomme de terre est une voie tres intéréssante de recyclage de déchet d'un produit agricole d'une très grande consommation à l'échelle mondiale et dans notre pays.

La consommation de la pomme de terre en Algérie est l'une des plus importantes dans le monde. Selon les chiffres annoncés par le ministère de l'Agriculture, l'Algérien consomme une moyenne de 111 Kg par an.Cette moyenne n'est que de 31 Kg/ an sur le plan mondial et représente presque un quart de ce que nous consommons en Algérie. Cette tendance de consommation a amené les pouvoirs publics à augmenter la production locale qui a doublé sur une période de presque vingt ans : La production nationale de la pomme de terre a atteint 50 millions de quintaux en 2017, contre26 millions de quintaux en 2009, avec un rendement de 310 quintaux par hectare**(Khelifa.L, 2018, site 2)**.

La pomme de terre est soit consommée sous forme cuite ou sous forme de fritures (chips, frites fraîches ou surgelées) ou transformée en produits déshydratés (poudres et flocons) destinés à la confection de purées reconstituées ou utilisés pour la fabrication de potages, snacks, etc. ... cette consommation génère des quantités de déchets importantes sous formes de pomme de terres impropre à la consommation, d'épluchures et eaux de lavages riche en amidon.

III.2.2. L'amidon:Structure et propriétés (Bahrani. S. A., 2012) :

Le tubercule de pomme de terre contient 65 à 85 % d'amidon (% en matière sèche).L'amidon est constitué majoritairement d'une fraction glucidique (98 à 99%) et d'une fraction non glucidique mineure qui représente 0,5 à 2 % de leur composition chimique totale. Cette dernière, malgré sa présence en faible quantité, elle ne doit pas être négligée, car elle modifie les propriétés fonctionnelles, en particulier la présence des lipides**(DUPRAT F.,D,1980) (Tableau I.3).**.

Tableau I.3 : Composition non glucidique et teneur en amylose de l'amidon de pomme de terre (DUPRAT. F.,D,1980)

Composition	Protéines	Lipides	Cendres	Phosphore	Amylose
(% d'amidon sec de pomme de terre)	0,05	0,09	0,3	0,04	23

L'amidon est un homopolymère d'unité D-glucose, dans la conformation chaise la plus stable. Les unités D-glucoses sont liées majoritairement (95 à 96 %) par des liaisons de type α (1,4) et dans une moindre mesure (4 à 5 %) par des liaisons de type α 1,6.

L'amidon est composé de deux polymères de structure primaire différente : l'amylose, molécule essentiellement linéaire et l'amylopectine, molécule ramifiée.Selon l'origine botanique, les teneurs en amylose et en amylopectine varient respectivement de 20 à 30% et de 70 à 80% pour les amidons standards. Cependant, quelques espèces d'amidon peuvent contenir moins de 1% d'amylose (maïs cireux ou waxy) ou entre 45 à 80% d'amylose (Amylomaïs) **(Tableau I.4 ,Figure I.4)**.

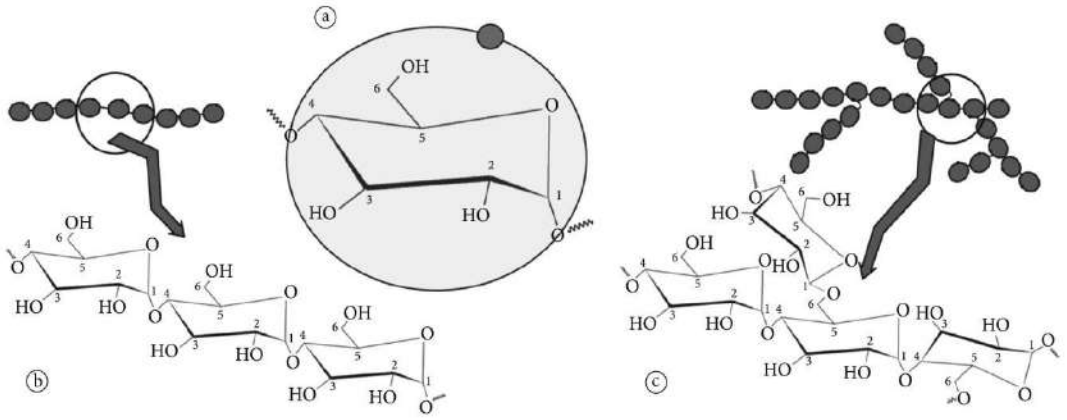


Figure I.4 : Structure chimique de (a) unité de glucose, (b) amylose, (c) amylopectine (Pérez.S et Bertoft.E,2010)

Tableau I.4 : Variation des teneurs en amylose et amylopectine selon l'origine botanique.(Multon.J.L.,1992)

	Amidon % matière sèche	Amylose %	Amylopectine %
Pomme de terre	84	23	77
Manioc	15	20	80
Maïs	75	25	75
Maïs cireux	75	0	100
Amylomaïs	75	77	23
Banane	90	17	83

L'amylose forme des complexes d'inclusion en présence d'acides gras, d'alcools, d'agents tensioactifs et d'autres composés apolaires. La formation de ces complexes peut modifier certaines propriétés techno-fonctionnelles de l'amidon, dont notamment la résistance à l'hydrolyse enzymatique, l'aptitude des granules au gonflement et à l'empesage**(Malumba.P,2010)**

L'amylopectine est le constituant majeur de la phase cristalline du granule. On associent souvent la résistance thermique des amidons extraits de certaines lignées de maïs au pourcentage élevé des courtes chaines d'amylopectine dans leurs parties cristallines. Cette résistance résulterait principalement du grand nombre de ramifications dans la structure cristalline de ces amidons, ce qui leur conférerait une plus grande résistance à la désarticulation pendant leur traitement thermique **(Huchette.M,1967)**

A. Propriétés hydro-thermiques de l'amidon:

L'amidon est insoluble dans l'eau à température ambiante. A une température supérieure à 60 °C, le phénomène d'empesage intervient. Il s'agit d'une perte de la cristallinité du grain et une dispersion de ces composants. La température à laquelle débute la dispersion des amyloses dépend de l'origine botanique. Lorsque le chauffage se prolonge, l'amylose amorphe se solubilise dans le milieu, Les petites molécules d'amylose sont libérées plus facilement tandis que des températures pouvant atteindre 90 °C sont nécessaires pour avoir une dispersion totale, y compris celle des amyloses participant à la cristallisation de l'amylopectine. L'état final est appelé empois d'amidon. Il s'agit d'une déstructuration irréversible du grain conduisant à une solution comprenant des granules gonflés et des macromolécules solubilisées.

En revenant à la température ambiante, il y a gélification par rétrogradation de l'amidon, l'amidon gélatinisé se réorganise pour atteindre un état énergétiquement plus stable, au cours de ce phénomène, la solubilité de l'empois diminue pour finalement donner un gel blanc et opaque, mélange d'amylose et d'amylopectine **(Tableau I.5).(Wertz J.Luc.2011).**

Tableau I.5 : Plage de gélatinisation de l'amidon en fonction de son origine (Multon. J.L, 1992)

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

B. Les réactions de transformation enzymatique de l'amidon :

L'amidon est utilisé depuis longtemps pour produire du glucose qui, par voie fermentaire donnera de l'alcool en utilisant des enzymes connues sous le nom d'amylases.Les amylases sont des enzymes qui hydrolysent les molécules d'amidon pour donner divers produits, y compris des dextrines et progressivement de plus petits polymères composés d'unités de glucose. Ces enzyme sont d'une grande importance dans l'actuelle de la

biotechnologie avec des applications allant de la nourriture, la fermentation, le textile à l'industrie du papier. Bien que les amylases puissent dériver de plusieurs sources (les plantes, les animaux et les micro-organismes), les enzymes microbiennes répondent généralement plus aux exigences industrielles.

Aujourd'hui, un grand nombre d'amylases microbiennes sont disponibles et elles ont presque complètement remplacé l'hydrolyse chimique de l'amidon dans les industries de transformation de l'amidon **(Sani et al.,2014)**

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

Elle provoque la libération du glucose et d'oligosides de 2 à 7 unités (maltose, maltotriose et surtout d'α–dextrines). Les propriétés des l'alpha amylases sont très variables et dépendent de l'origine de l'enzyme **(Tableau I.6) (Sani et al.,2014)**

Tableau I.6: Propriétés de quelques alpha amylases(Villette J.1991).

0rigine	Masse molaire KDa	pH optimum	Température optimale °C
Animale			
Pancréas de porc	50	6,9	37 - 40
salive	50	6,9	37 - 40
Végétale			
Orge malté	60	4,7 – 5,4	50 – 55
Microbienne			
A. niger	58	4 – 5	50
A. oryzae	52,5	5,5 – 6,9	40
B. subtilis	47	5,3 – 6,4	50
B. acidocaldarius	68	3,5	75
B. amyloliquefasciens	49	5,9	65
B. licheniformis	22-23	5,9 - 9	76

La β-amylase qui agit à partir de l'extrémité non-réductrice de la chaîne, coupe l'amidon en unités maltose (un disaccharide)**(Sani et al.,2014).**

La γ-amylase (ou amyloglucosidase ou encore glucoamylase) : se sont des exo-enymes qui coupent la chaîne à la dernière liaison glucosidique α (α (1,4) et α (1,6)) à l'extrémité non-réductrice, et conduit au monosaccharide glucose. La γ-amylase scinde aussi les liaisons α (1,6)**(Wertz.J.Luc.2011)**c'est est une enzyme essentiellement produite par des

moisissures du genre *Aspergilus sp., Penicillium sp. et Rhizopus sp.*. Le rendement de l'hydrolyse dépend de la nature des liaisons adjacentes, de la taille et de la structure du substrat à hydrolyser. Les longues chaînes d'alpha glucanes sont plus rapidement hydrolysées que les maltodextrines et les oligosaccharides. Certaines amyloglucosidases de *Aspergillus oryzae* sont susceptibles de réagir avec des grains crus d'amidon**(Sauer.J et al.,2000)**.

III.3. Microorganisme producteur *: Saccharomyces cerevisiae,* Caractéristiques :

III.3.1. Définition :

Les levures peuvent être définies comme des eucaryotes microscopiques. Elles sont des hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leur caractère unicellulaire et l'absence de vrai mycélium (au moins dans la plus grande partie de leur cycle biologique), largement distribuées dans la nature. La levure a été découverte, isolée et identifiée au milieu du XIXème siècle. Ce champignon, capable de métaboliser des sucres, (saccharo-) responsable de la fermentation fut appelé *Saccharomyces cerevisiae* par Mayen en1837 **(Fromentin. F, 2000)**.

III.3.2. Historique de l'usage de *Saccharomyces cerevisiae :*

Depuis l'Antiquité, les Babyloniens, les Égyptiens et les Celtes ont utilisé la levure pour la préparation de boissons alcoolisées. Vers 370 ans avant J.-C, Hippocrate, le célèbre médecin grec, a découvert l'action diurétique de la levure de bière et l'a conseillé comme remède. Au Moyen-âge, les moines qui soignaient les lépreux absorbaient de la levure afin dene pas être contaminés à leur tour. De nos jours, la levure *Saccharomyces cerevisiae* est largement utilisée dans l'industrie alimentaire pour la fabrication des boissons alcoolisées, du pain, des produits de la santé et du biocarburant **(Nguyen.T ,2016).**

III.3.3. Métabolisme :

Saccharomyces cerevisiae est un micro-organisme capable de vivre aussi bien en présence qu'en absence d'air, avec comme nutriment préféré un sucre simple (le glucose). **En absence d'air** (anaérobiose)**,** la levure tire l'énergie pour survivre de la fermentation du sucre qui produit de l'alcool éthylique et du gaz carbonique, suivant l'équation**(Boitard. L, 2010)**:



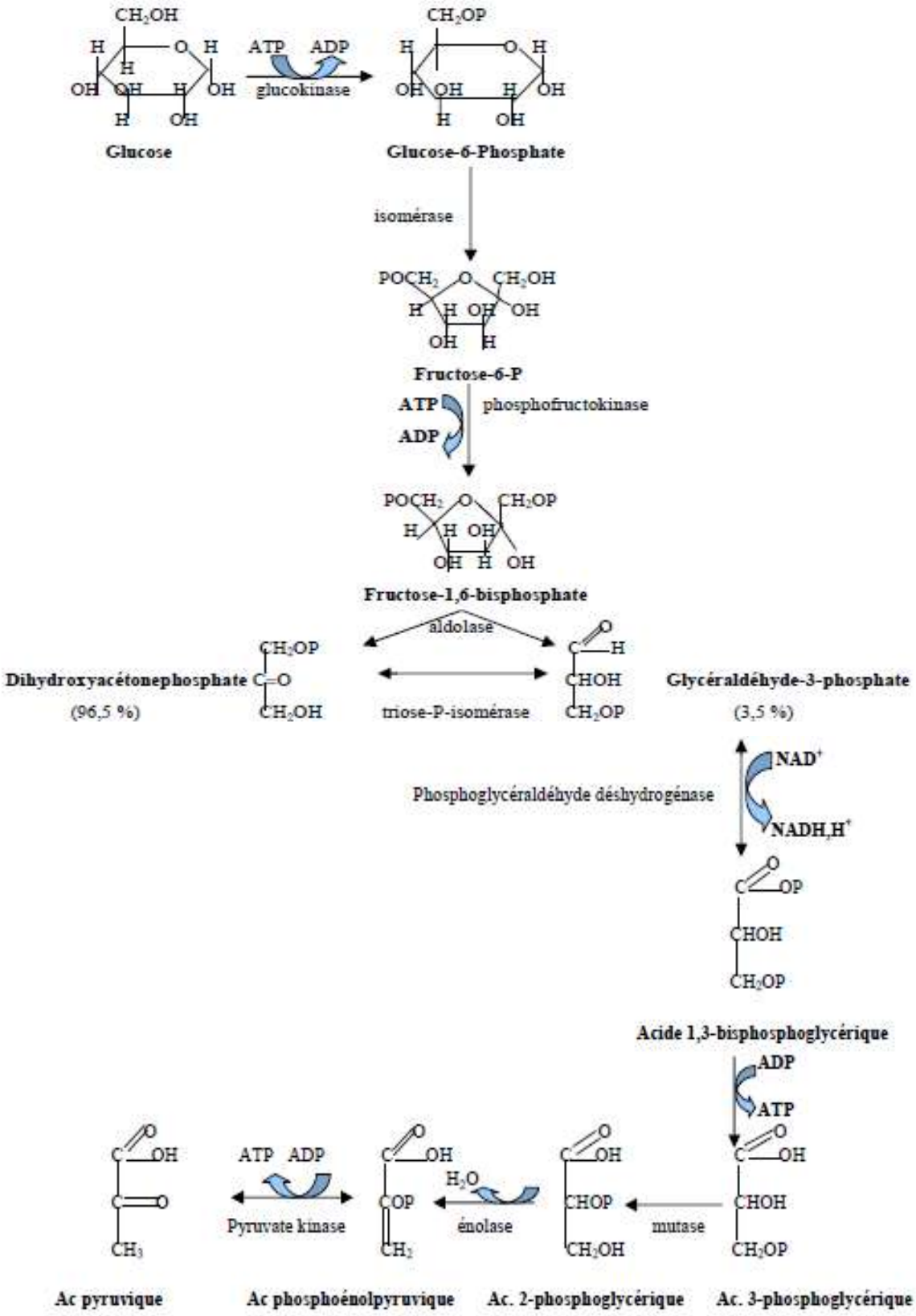


Figure I-5 : Schéma de la glycolyse

(Nehme. N, 2008)

La glycolyse **(Figure I.5)** constitue la première étape de la dégradation du glucose. Elle se fait en aérobiose comme en anaérobiose et amène à la formation de deux molécules de pyruvate, deux molécules d'ATP et deux molécules de NADH, H^+. Ces dernières subissent une réoxydation en anaérobiose amenant dans le cas de la fermentation alcoolique, à la réduction de l'acétaldéhyde (issu de la décarboxylation du pyruvate) en éthanol **(Figure I.6)(Boitard.L,2010).**

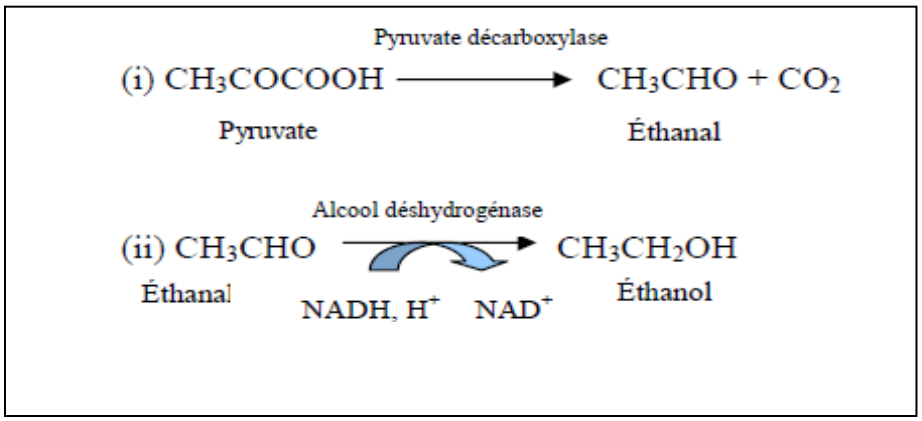


Figure I.6 : Transformation du pyruvate en éthanol

(Nehme. N, 2008)

La réaction globale se résume ainsi :

1Glucose → 2 pyruvate + 2ATP + 2NADH, H+ → 2 Ethanol + 2 CO2

Nous avons donc 2 molécules d'éthanol produites par 1 molécule de glucose consommée soit ation de 180g de Glucose. Le rendement maximale de : 0,51g d'éthanol /g de glucose.

Figure I.5 : Schéma de la glycolyse

(Nehme. N, 2008)

III.3.4 Influence des paramètres environnementaux sur le Métabolisme de la levure :

- **Influence du pH :** La levure *Saccharomyces cerevisiae* présente l'avantage de croître sur un milieu acide, pour lequel la plupart des bactéries ne se développent pas. Elle préfère un pH comprisentre 4,5et 5**(Revuz. B, 1979).**
- **Influence de la température :** La température convenable pour la levure *Saccharomyces cerevisiae* se situe entre 25°Cet 35°C. Il s'agit d'organismes mésophiles. L'augmentation de la température accroit la vitesse de la production de certains métabolites comme l'éthanol mais, elle augmente la sensibilité et l'effet néfaste des stress tels que les chocs osmotiques qui

provoque unediminution de la viabilité, et de l'activité cellulaire **(Maréchale P.A et Gervais P .1999)**.

- **Influence de l'éthanol :**L'éthanol représente la principale cause de stress pendant la culture. Il devient toxique à des concentrations allant de 8 à 18% (m/v) et ceci selon l'état physiologique de l'organisme. Une fois la concentration de l'éthanol augmente dans le milieu de culture, onassiste à une diminution de la vitesse de la croissance, de la viabilité cellulaire, de l'activité métabolique et de la capacitéde production de la levure **(Alguilera. F,2006)**.
- **Influence de l'oxygène :**La concentration en oxygène dissous dans le milieu de culture est un paramètreimportant qui va orienter (en fonction de la souche utilisée, du mode de conduite, …) lemétabolisme du microorganisme considéré.(**Ryu D.D et al. , 1984)**ont démontré que la tolérance à l'éthanol peut augmenter notablement lorsqu'on maintient un apport de faiblesquantités d'oxygène dans le système.
- **Influence du substrat :**En général, l'inhibition par le substrat se manifeste de façon importante pour des concentrations qui varient entre 150 et 250 $g.L^{-1}$ de glucose. A 400 $g.L^{-1}$, la croissance est totalement stoppée **(Wang D.I, 1979)**.

III.4. Etapes de production du bioéthanol à partir des plantes amylacées :

III. 4.1. Prétraitement ou Hydrolyse:

Le maïs est la plante la plus utilisée pour la production d'éthanol aux Etats-Unis d'Amérique. Cependant, cette plante, grande consommatrice en eau, est bien moins adaptée aux étés généralement secs de l'Europe. Néanmoins d'autres plantes sont utilisables comme le blé et l'orge (moins gourmande en eau en été), la pomme de terre ou encore le manioc ; ce dernier est particulièrement bien adapté au climat tropical. Les réserves d'amidon dans les céréales s'effectuent dans leurs graines. Celles-ci étant pauvres en eau, elles peuvent être stockées et utilisées ultérieurement. Ce n'est pas le cas pour la pomme de terre ou le manioc qui sont riches en eau et doivent donc être transformés rapidement après récolte **(Riess.J,2012).**

A l'instar des jus de betterave, la composition des jus sucrés à partir d'amidon peut varier selon les procédés utilisés, selon les variétés des plantes utilisées ou encore selon les sols. Cependant dans ce cas, l'influence de la technique utilisée pour obtenir les jus sucrés est encore plus importante. En effet, l'amidon contenu dans les plantes n'est ni fermentescible, ni accessible directement, il doit donc être transformé en glucose par un procédé consiste de prétraitement enzymatique **(FigureI.7) (Riess.J,2012).**

l'amidon subit une liquéfaction par des alpha-amylases afin d'obtenir les dextrine puis une saccharification par des gluco-amylases afin de libérer le glucose directement fermentescible.

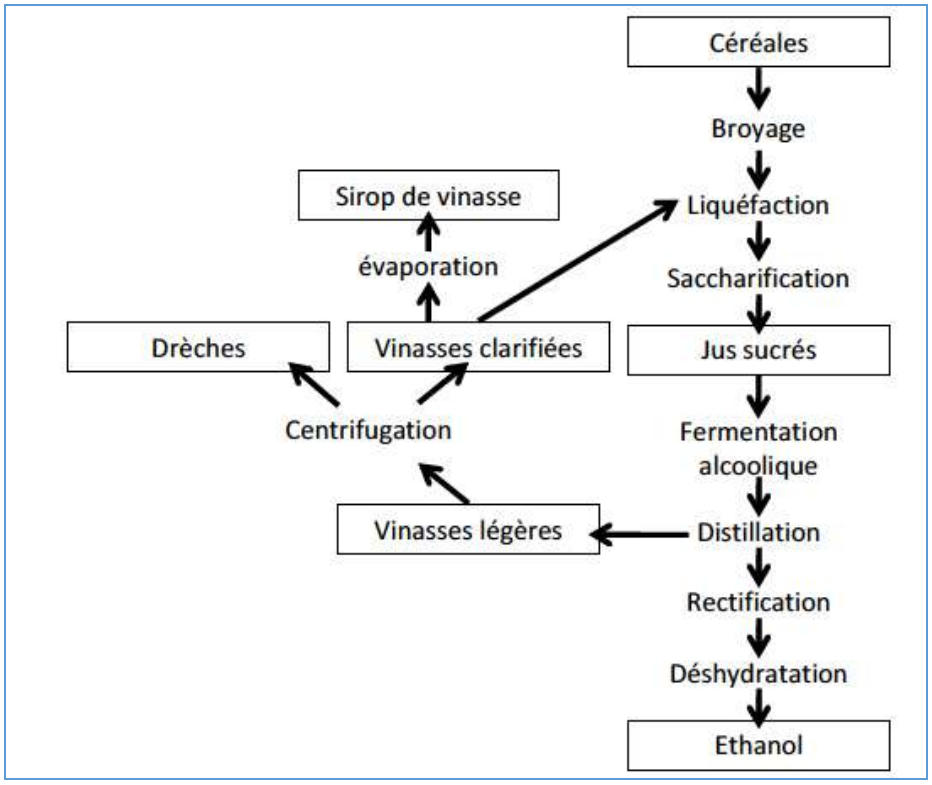


Figure I.7 : Procédé de production du Bioéthanol à partir des plantes amylacées.(Riess.J,2012).

III.4.2. la fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique consiste à transformer en anaérobiose les sucres fermentescibles issus de l'hydrolyse de l'amidon en alcool et gaz carbonique **(Kaidi. F, Touzi. A., 2001) (Figure I.8)**.

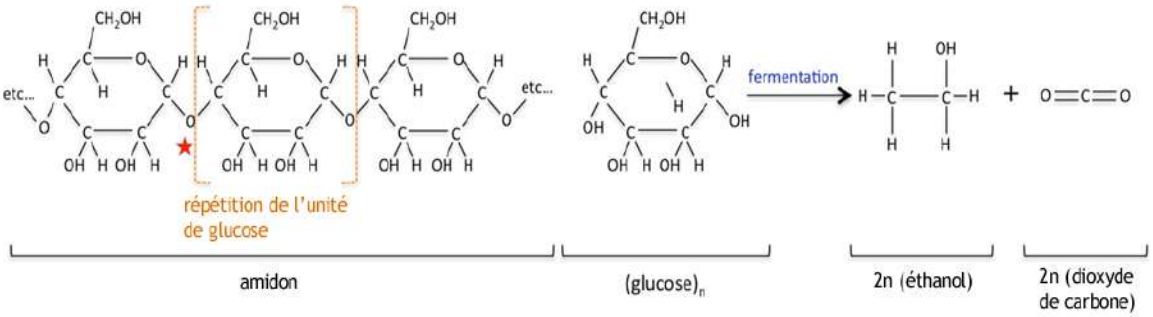


Figure I.8 : Fermentation du glucose issus de l'hydrolyse de l'amidon en éthanol.

La fermentation alcoolique est réalisée dans un milieu riche en sucres. Le moûtest introduit dans le fermenteur puis inoculé avec le milieu de pré-fermentation. La fermentation dure de 40 à 72 heures. Elle se déroule en milieu non renouvelé. La croissance de *Saccharomyces cerevisea* peut être limitée par l'accumulation des substances toxiques. Il faut Signaler que les acides gras : l'acide octanoïque, decanoïque, formés parles levures, deviennent toxiques pour elle. Pour remédier à ce phénomène, du charbon est additionnée aux moûts avant ensemencement pour faciliter la reprise de lafermentation

Les fermentations sont des procédés multiphasiques, ce qui pose des contraintesbiologiques et physico-chimiques. Les cellules vivantes constituent un système organisé avecdes entrées de substrats, d'oxygène, de facteurs de croissance et des sorties de déchets commele CO2 et l'éthanol.La partie active de la matière vivante, que constituent les protéines, nécessite un environnement adéquat du point de vue du pH, de la température, de la force ionique, de la présence de cofacteurs enzymatique et d'effecteurs enzymatiques. Ceci permet ledéveloppement, la maintenance et la reproduction des cellules dans de bonnes conditions.Les systèmes multiphasiques posent des problèmes de transferts entre chacune des phases, cequi entraine, lors de leurs mises en œuvre à grande échelle, l'hétérogénéité du milieu.**(Nguyen.T,2016).**

.III.4.3 Récupération et purification des produits de fermentation :

Après fermentation, on obtient divers produits qu'il faut séparer et récupérer. Parmi ces produits, il y a le bioéthanol qui se forme dans la solution en faible concentration. Il est Nécessaire de le récupérer par distillation ou rectification et éventuellement une déshydratation pour éliminer toute trace d'eau **(Fromentin. F, 2000)**.

La distillation est l'opération classique de récupération de l'alcool éthylique résultant de la fermentation ; elle s'opère dans des colonnes à distiller. Ainsi le moût alcoolisé est réchauffé à 75 °C puis éjecté dans la partie supérieure d'une colonne de distillation qui comporte des plateaux superposés.Le moût alcoolisé tombe sur le premier plateau et descend de plateau en plateau pour aboutir à la base de la colonne, inversement de la vapeur est injectée sous pression à la base de la colonne et progresse vers le-hauten traversant successivement tous les plateaux.Elle entre ainsi en contact direct avec le liquide. Le moût s'épuise petit à petit de son alcool en descendant de plateau en plateau. Arrivé au bas de la colonne, ce liquide épuisé appeléVinasse est éliminé.

La vapeur s'enrichit au contraire en alcool au fur à mesure qu'elle gagne le sommet de la colonne. Lorsqu'elles sont par le haut, elle se refroidit dans un condenseur et passe à l'état liquide**(Acourene. S, 2013)**.

La production de l'alcool rectifié à 96% à partir des moûts de toutes origines se fait par lapurification du moût alcoolisé, sur la colonne d'épuration ensuite par la distillation et la rectification du moût épuré. Cette opération peut être complétée par une colonne d'affinage afin d'éliminer les produits légers **(Acourene S., 2013)**.

Partie expérimentale

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

- Une étape de prétraitement physique et enzymatique en utilisant deux types d'α-amylase pour la liquéfaction et la glucoamylase pour la saccharification.
- Une étape de fermentation alcoolique en utilisant *Saccharomyces cerevisiae* .

I-Matériels :

I.1 Verreries etpetitmatériel:

- Verrerie de laboratoire : pipettes+poire, fiolesjaugées, béchers, erlenmeyer, cristallisoirs, éprouvettes, spatules et verredemontre, tubesàessaies.

- Micropipettes, barreaux, thermomètres, pince métallique, bec bensun, disques en papier filtre 6mm, écouvillons stériles et pipettes pasteurs.

I.2 Réactifs, produits et solutions :

- Iode(I_2).

- Ioduredepotassium(KI).

- Solutiond'iodinemère(0.1N) et Solutiond'iodine diluée(0.001N).

- AcidechlorhydriqueHClpur(12N), solutiond'HCl(0.1N) et solution d'HCl (0.2N).

- Solution tampon (acétate de sodium trihydraté/ acide acétique), pH 5.8.

- Solutions d'amidon de concentration différentes.

-Réactif de dosage du Glucose type «QCA».

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

I.3 Equipements

- Agitateur magnétique « Heidolph MR Hei-standard »

- Balance « Sartorius »

- Spectrophotomètre (UV-Visible) « UV mini 1240-SHIMADZU »

- pH mètre « Hanna »

- Bain-marrie « Memmert »

- Autoclave « Memmert »

- Capteur Ethanol « Jeulin »

-Centrifugeuse«EBA20»

- Dispositif de distillation « Jeulin ».

I.4 Matériel biologique :

• Biocatalyseurs (Enzymes) :

-Alpha-amylase BAN 480L en solution, aimablement fournie par le complexe SAIDAL de Médéa : Code 09330028 L, Titre : 3.7 à 4.1 *10^6 unités CEIP /100 ml, Densité : 1.2g/ml. Température optimale 55°C, pH optimum 6.

-Alpha-amylase thermostable,Température optimale (85ºC95ºC).

-Glucoamylase en poudre : Température optimale 50°C, pH optimum 4.

• Micro-organisme :

- ✓ *Saccharomyces cerevisiae* commercialisée « S.I. Lesaffre Marq-France ».
- ✓ Souches test pour antibiogramme.

•Déché de Pomme de terre (épluchure).

II. Méthodes Résultat et Discussion :

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

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

Méthode :

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

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

Où :

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

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

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

Pour déterminer la quantité d'amidon :

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

- sécher le retentât à 105°Cjusqu'à poids constant. Cette masse correspond aux résidus cellulosiques (fibres cellulosiques) insolubles dans l'eau (PS retentât).

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

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

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

Résultat et Discussion :

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

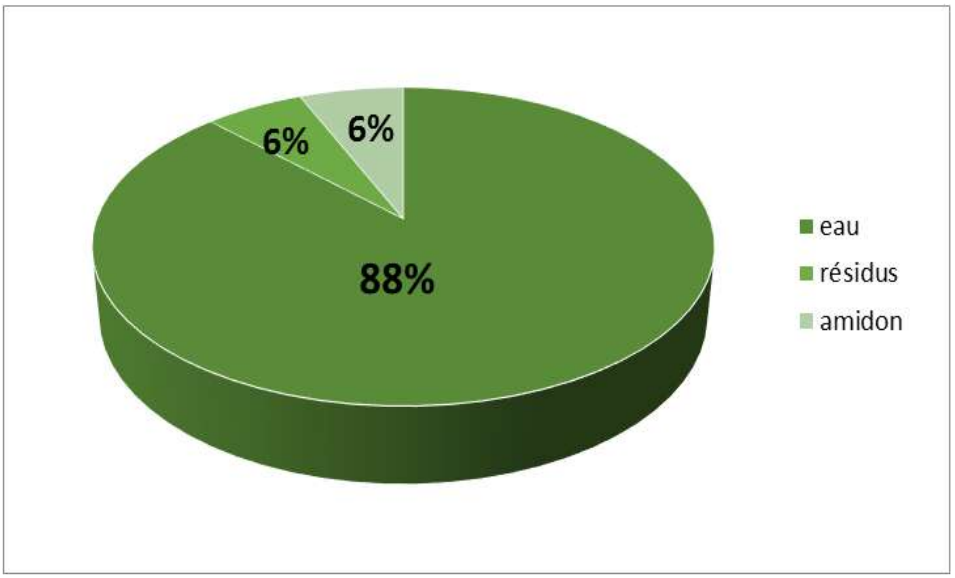


Figure II-1 : Composition des épluchures de la pomme de terre.

Nos résultats concordent bien avec les données bibliographiques. Selon un rapport du FAO (Organisation des nations unies pour l'alimentation) **(FAO, 2008, rapport 1)**; la teneur en eau au niveau de la pomme de terre fraîche est estimée de 80%, alors que la quantité d'hydrates de carbones est aux environs de 20% (cellulose +amidon) dont 60% à 80% environs d'amidon. D'autres auteurs signalant des taux de 78% et 19% pour l'eau et les glucides respectivement **(Arvy. M.P et Gallouin. F, 2007) ,(Richonnet.C, 2004),(Delaplace. P, 2007)**confirme aussi que la pomme de terre contient à maturité une moyenne de 77,5% d'eau.

La matière sèche exprimée en pourcentage de la matière fraîche est formée principalement de glucide totaux (19,4% ; principalement amidon, saccharose, glucose, fructose, cellulose brut et substances pectiques).

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

Méthode :

Dans cette partie, nous testons l'alpha-amylase afin de confirmer son activité. Le but est de mesurer sa vitesse maximale, dans les concentrations saturantes en substrat sous des conditions déjà optimisées par **Abdesselam. I, Bennia. N, 2016** (pH6 T°=55ºC). Le suivi de la réaction enzymatique se fait en mesurant la quantité restante en amidon à chaque instant en utilisant une Courbe d'étalonnage préétablie **(Annexe 02)**. Le protocol se résume ainsi :

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

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

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

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

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

7. Déduire les concentrations en amidon correspondantes aux prélèvements à partir de la courbe d'étalonnage.

Résultat et Discussion :

Les résultats représentés sur la **(Figure II-2)** montrent une diminution de la concentration de l'amidon pour toutes les concentrations initiales testées. L'alpha-amylase est donc fonctionnelle. Toute la quantité d'amidon est pratiquement dégradée au bout de 15min pour une concentrations initiale de 10g/l . La concentration a diminué jusqu'à 9g/l pour une concentration initiale de 20g/l alors qu'un palier situé aux environs de 18g/l est obtenu à partir de 15min pour une concentration initiale de 30g/l.

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

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

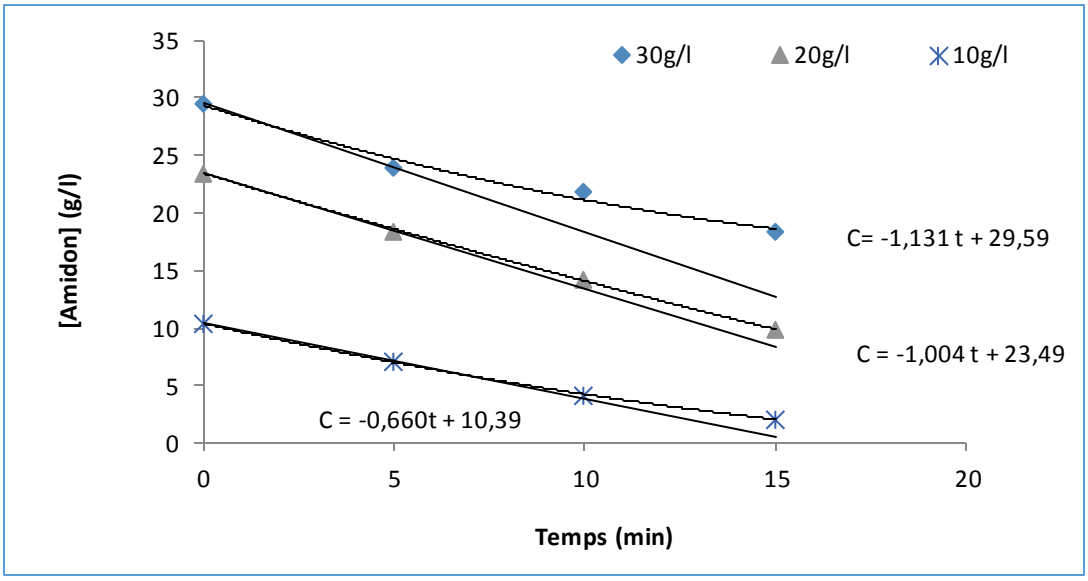


Figure II-2 : Cinétique de dégradation de l'amidon par la BAN α-amylase à pH6, T°=55°C.

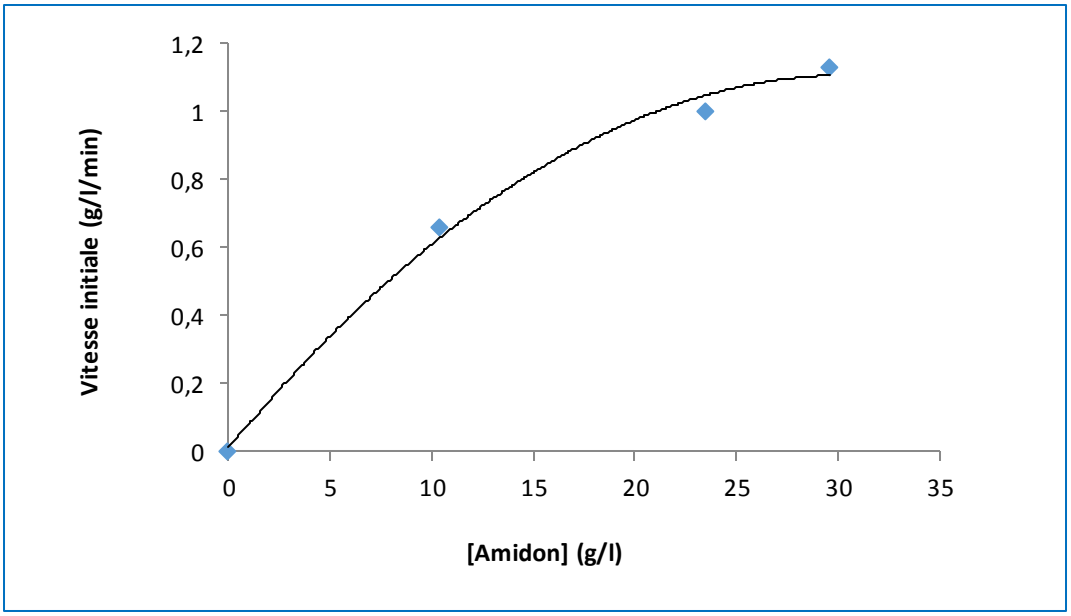


Figure II-3 : Courbe de saturation: Evolution la vitesse initiale (Vi) de l'alpha-amylase en fonction de la concentration initiale en amidon.

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

Km est la concentration en substrat correspondante à la moitié de la vitesse maximale. La vitesse maximale obtenue expérimentalement et tirée à partir de la courbe de saturation **(Figure II-3)** est approximativement **1,131g/l/min** avec un Km aux environ de de **10g/l,** ce qui correspond à une affinité 1/Km de **0 ,1l/g**.

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

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

et la linéarisation d'Eadie Hofstee **(Figure II-14)**, selon l'équation :

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

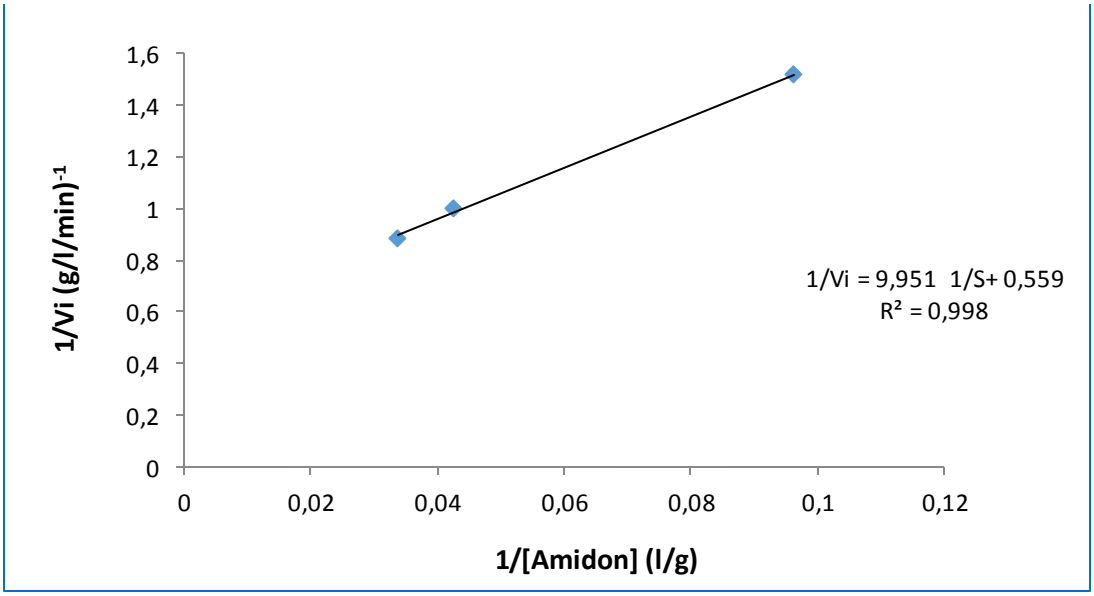


Figure II-4 : Représentation graphique de la linéarisation de lineweaver-burk.

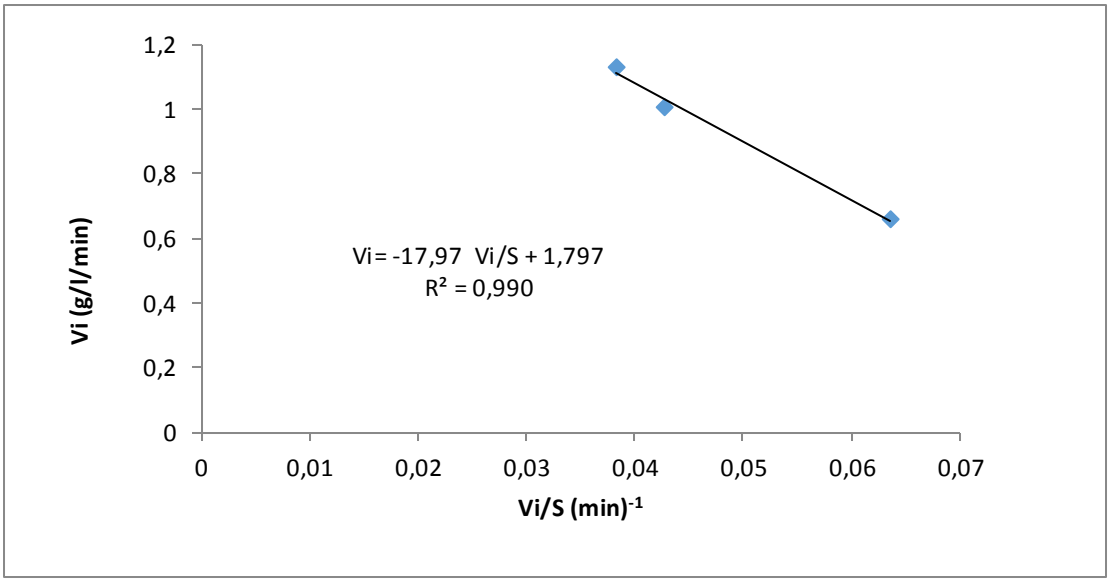


Figure II-5 : Représentation graphique de la linéarisation d'Eadie Hofstee.

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

Tableau II-1 : Parametres cinétiques tirés à partir des linéalisations de lineweaver-burk et Eadie Hofstee : Comparaison avec ceux tirés à partir de la courbe de saturation

	Km (g/l)	Vmax (g/l/min)	Affinité 1/Km (l/g)
lineweaver-burk	17,85	1,788	0,056
Eadie Hofstee	17,97	1,797	0,055
Courbe de saturation	10	1,131	0,1

Les deux modèles convergent vers les mêmes parametres cinétiques Km et Vmax. Les vitesses maximales calculées sont différentes de celle trouvée expérimentalement pour une concentration saturante de 30g/l. En faite, ces modèles calculent les vitesse maximales pour des concentrations saturantes en substrat, supérieures à 30g/L en tennant compte d'une solubilité idéale de l'amidon utilisé. Réellement , nous avons travaillé avec un amidon difficile à solubiliser à des concentrations supérieures à 30g/l.

Bilan du test de l'activité enzymatique :

- **Vmax réelle=1,131g/l/min,** ce qui correspond à **0,1131 g/min/100ml**,
- La quantité d'enzyme diluée au 1/1000 utilisée est de 0,5ml/100ml de volume réactionnel. La vitesse exprimée en g d'amidon hydrolysé/min/volume d'enzyme est donc **0,1131g /min/0,5mld'enzyme diluée au 1/1000**. La vitesse ou l'activité enzymatique par **ml d'enzyme diluée au 1/1000** est donc de **0,262g/min/ml**.
- L'activité enzymatique par **ml d'enzyme pure** est de **262 g/min/ml**.
- En convertissant l'activité en g/min/ml en (mg/s/ml), nous avons **4366.67 mg/s/ml d'enzyme pure**.
- En unité CEIP (mg/10s/ml), nous avons **43666.7 CEIP/ml d'enzyme pure**.

Sur l'étiquette des caractéristiques de l'enzyme offerte par SAIDAL, le fournisseur annonce une activité de 3,7 à 4,1. 10^6 unités CEIP /100 ml ce qui correspond à une marge allant de 37000 à 41000 CEIP/ml. L'activité enzymatique de l'alpha-amylase mesurée dans les conditions optimales (pH6 et T°=55°C) est dons très proche **(43666.7 CEIP/ml).**
Des résultats similaires ont été trouvés par **Absesslam. I et Bennia**. **N, 2016**(Activité réelle= 44333,33CEIP/ml), **Boumenir S et Azzouzi. F, 2019**(44000CEIP /ml) et**Cherifi. N et Benaissa. F, 2020** (44666.7 CEIP/ml).

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

La liquéfaction de l'amidon consiste à son hydrolyse en chaines glucidiques plus courtes qu'on appelle dextrines. Elle se fait généralement soit par hydrolyse acide ou enzymatique. Notre objectif est d'appliquer un procédé vert en testons en priorité la catalyse enzymatique par rapport au traitement chimique qui est polluant et coûteux (usage d'acide et de l'énergie).

II.3.1. Attaque par la BAN- Alpha amylase :

a) Historique :

L'attaque enzymatique d'un amidon peu soluble constitue un problème ; car le substrat est peu accessible à certaines alpha-amylases : principalement la BAN alpha-amylase :

- Selon **Absesslam. I et Bennia**. **N, 2016**, la liquéfaction totale d'une solution d'amidon soluble à 30g/l s'effectue en 2h dans les conditions optimales: pH op=6, T°op=55°C, un rapport E/S≈ 30 CEIP/g d'amidon. Cependant, lorsqu'il s'agit d'un amidon peu soluble, la phase de liquéfaction n'est performante que si le substrat subit 3cycles de « dispersion-

liquéfaction de 4h à 5h». Il faut rappeler que la dispersion est un traitement thermique à 130°C sous pression pendant 1h.

Cette méthode a été adoptée par ces auteursafin de rendre accessible l'amidon de maïs à la liquéfaction.Elle est inspirée des travaux **Thivend. P et al., 1965**qui l'ont utilisé pour solubiliser l'amidon lors des tests de l'activité alpha-amylase.

Enfin, une liquéfaction totale d'une solution d'amidon non soluble (de maïs et de riz) à 30g/l n'a pas été obtenue après trois cycles de « dispersion- liquéfaction » dans les mêmes conditions optimales. L'aspect des solutions est resté trouble, attestant la présence d'amidon résiduel.

- Selon **Boumenir S** et **Azzouzi. F, 2019**, l'essai de liquéfaction sur la pomme de terre fraiche broyée montre que son amidon à 30g/l résiste à l'hydrolyse enzymatique dans les conditions optimales (pH op=6, T° op=55°C, un rapport E/S≈ 30 CEIP/g d'amidon)à cause de son insolubilité. Le résultat est identique même en augmentant le rapport E/S jusqu'à 3000 CEIP/g d'amidon pour la même concentration (30g/l).

Des essais ont été réalisés dans le but d'améliorer le contact « Enzyme liquéfiante-amidon frais » : diminution de la charge dumilieu à 15g/l avec un rapport E/S=6000 CEIP/g d'amidon, ajout de gomme arabique, un prétraitement à la cellulase, changement du type d'alpha-amylase.

Cependant, ces tests n'ont pas aboutis à une amélioration significative de l'opération de liquéfaction. Enfin, ces auteurs ont cédé au traitement thermique de l'amidon, bien qu'il ne fût pas prioritaire dans leur étude. La dispersion à 130°C avait un effet nettement positif sur la qualité de la liquéfaction.

L'amidon est totalement hydrolysé au bout de 1H30min à 2H, dans les conditions optimales suivantes : une température de 55°C, un pH=6, un rapport E/S= 250CEIP/ g d'amidon quel que soit sa charge dans le milieu d'hydrolyse (15, 30, 60g/1). L'optimisation du traitement thermique a montré que les faibles températures (100°C) sont adéquates aux faibles charges (15g/l) alors que les fortes températures (130°C) sont efficaces pour les grandes charges (60g/l).

b) Objectif :

Notre objectif est d'appliquer un protocole de liquéfaction simple, efficace et peu coûteux afin d'hydrolyser l'amidon-issu d'épluchats de pomme de terre dispersé thermiquementsous pression à 130°C en utilisant la BAN-alpha-amylase.

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

Il faut signaler que les épluchures traitées thermiquement subissent aussi un traitement physique qui consiste à un broyage afin de rendre la suspension plus accessibles aux enzymes.

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

Méthode :

- Les épluchures de pomme de terre collectées à partir des restaurants sont tout d'abord nettoyées à l'eau pour éliminer toutes les impuretés, égouttées puis séchées avec du papier absorbant.

-Pour préparer 100ml d'une suspension d'amidon dispersé à 30g/l, il faut cuire, sous pression (à 130°C dans une cocotte-minute), une quantité de 50g d'épluchât fraisdans un volume suffisant d'eau pendant 1h.

- Pour préparer quatre suspension de 50 g d'épluchure /100 de tampon pH6, il suffit de Cuire,souspression(à130°Cdansunecocotte-minute),200gd'épluchuresfraiches dansunvolumed'eau, pendant une heure.

-Egoutter la quantité cuite, puis diviser la masse totale obtenue apres cuisson par quatre.

-Broyer chaque massedans 100mldetamponpH6.

-Laisser les suspenssions (couvertes) au bain marie à 55°C, jusqu'à stabilisation de la température puis commencer l'hydrolyseen ajoutant à chaque suspension dispersé (2ml,1ml, 0.5ml, 0.25ml) de la BAN-alpha-amylase dilué (1/50).

-Prélever 1ml de milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N) pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu avec 2ml d'iodine (0,001N).Le prélèvement révélé à l'iodine est aussi dilué au 1/5 afin de visualiser les matières en suspension. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blanc jusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif)**(Figure II-6).**

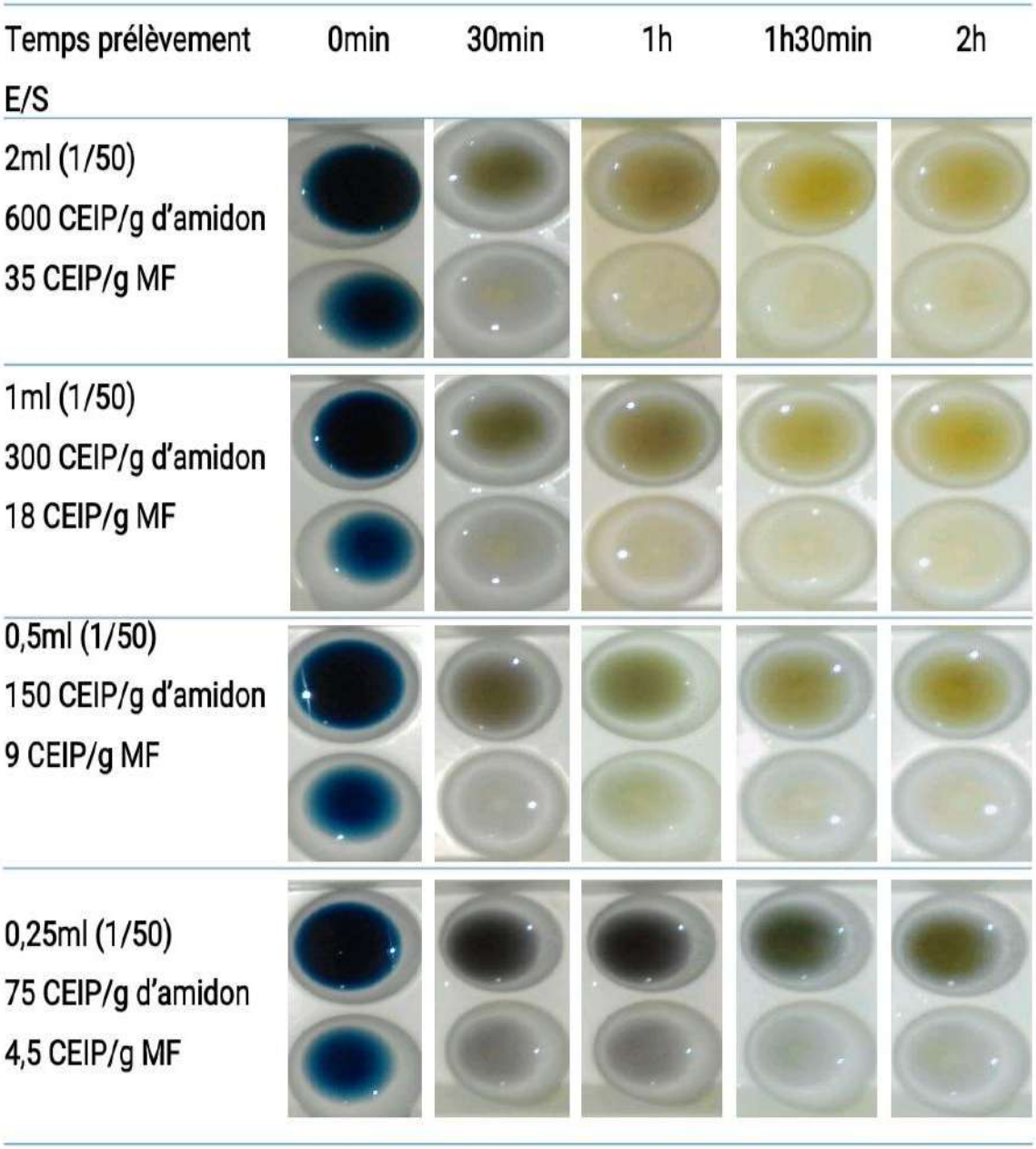


Figure II-6 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/ldispersées à 130°C pour différents rapports E/S.

Résultat et Discussion :

Dans cette partie, nous avons varié la quantité de l'enzyme dans le milieu réactionnel. Le rapport E/S varie donc de 600 CEIP/g d'amidon (35 CEIP/g MF) à 75 CEIP/g d'amidon(4,5 CEIP/g MF).Les résultats **(Figure II-6)**montrent que le temps de virage de la couleur après révélation à l'iodine varie en fonction de la quantité d'enzyme. Il est de 1h 30min pour :

600 CEIP/g d'amidon (35 CEIP/g MF).

300 CEIP/g d'amidon (18 CEIP/g MF).

150 CEIP/g d'amidon (9 CEIP/g MF).

Il faut signaler que le rapport E/S=75 CEIP/g d'amidon (4,5 CEIP/g MF) n'aboutit pas à une hydrolyse totale about de 2h, car le temps de virage était plus important (>2h), ce qui est pratiquement et économiquement peu intéressant.

Le rapport E/S optimal est donc aux environs de 300 CEIP/g d'amidon (18 CEIP/g MF). Ce rapport est identique à celui trouvé par **Cherifi. N et Benaissa. F, 2020.** Il esttrès proche de celui trouvé par **Boumenir S et Azzouzi. F, 2019** dansles mêmes conditions optimales (250 CEIP/g d'amidon à 55°C à pH=6) et avec le même temps d'hydrolyse (1H30à 2H).

d) Effet de la concentration du substrat (catalyse en milieux concentrés) :

L'objectif de cette partie est l'étude de l'effet de la concentration du substrat sur l'efficacité de l'hydrolyse et ce pour le rapport E/S optimal (équivalent à 1ml de la dilution 1/50) (300 CEIP/g d'amidon). Nous avons donc tenté une hydrolyse dans le milieu le plus concentré que possible et qui n'engendre pas des problèmes d'agitation à cause de sa teneur en matières fraiches dispersées.

Méthode :

- Préparer des suspensions d'épluchures (cuites sous pression pendant 1 heure et broyées) de 50g, 100g, 150g, 200g par 100 ml de tampon pH6 (ce qui correspond à des concentrations en amidon de 30g/l, 60g/l, 90g/l et 120g/l.

-Chaque suspension en ajoutée de (1ml, 2ml, 3ml, 4ml) d'enzyme dilué (1/50) respectivement, ce qui permet de maintenir le même rapport optimal 300CEIP/g d'amidon (18 CEIP/g MF) quelque soit la charge du milieu.

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

Le prélèvement révélé à l'iodine est aussi dilué au 1/5 à fin de bien visualiser les matières en suspension. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blancjusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif)**(Figure II-7).**

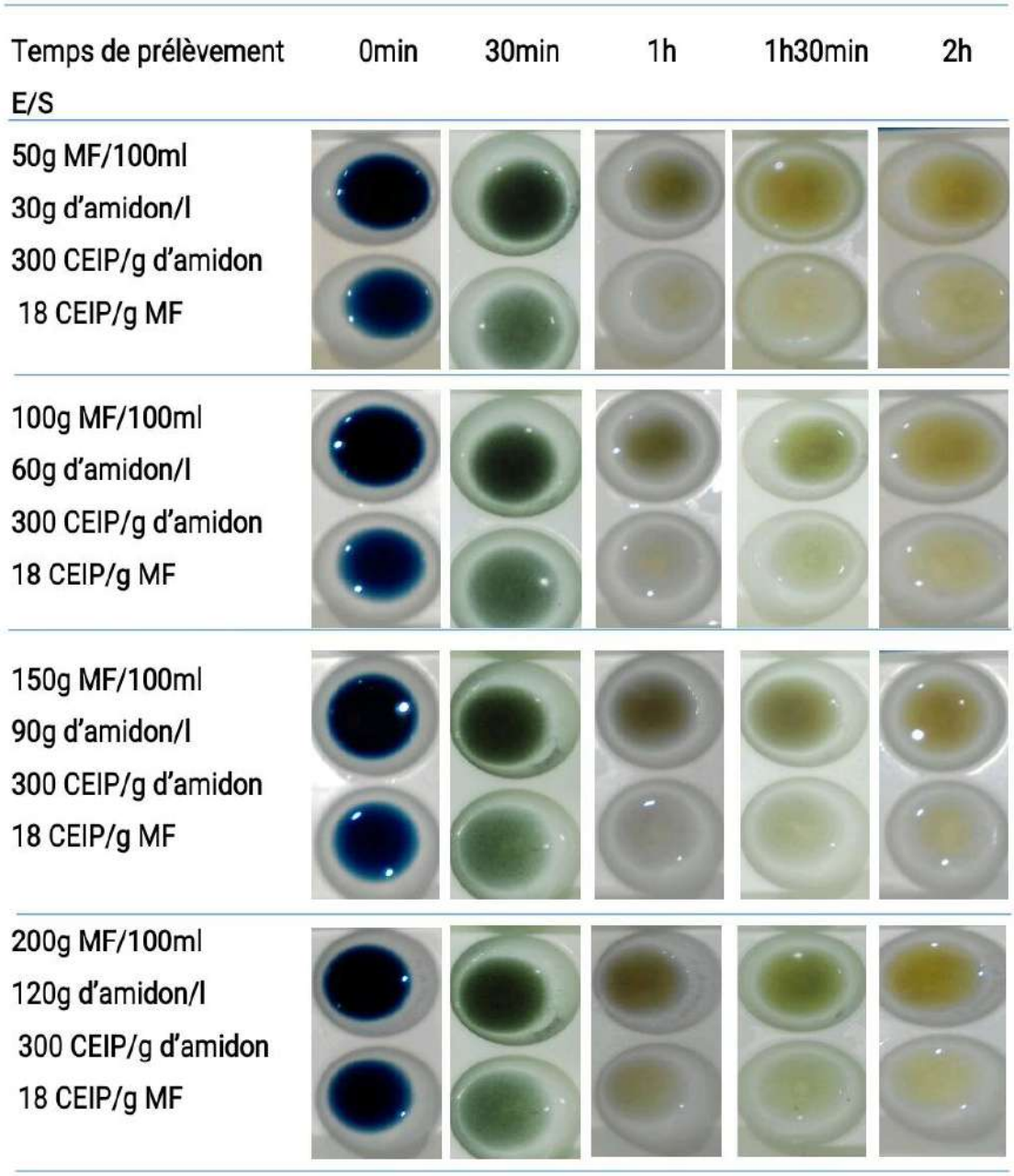


Figure II-7: Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches dispersées à 130°C avec un rapports E/S =300 CEIP/g d'amidon en milieux concentrés.

Résultat et Discussion :

Des milieux plus concentrés en matières fraiches ont été testés : 100g/100ml ,150g/100ml et 200g/100ml. Nous signalons que les prélèvements étaient très difficiles, car le milieu est plus concentré en substrat. Les épluchures de pomme de terre après traitement thermiqudeviennent

plus onctueuses et le volume du milieu est réduit ce qui a interféré l'agitation, et donc le contact enzyme-substrat et par conséquent l'efficacité de la liquéfaction.

Les temps d'hydrolyse dépassaient au début les 2heures. Le mode d'agitation par seouage au bain marie était incompatible avec la charge du milieu. Une amélioration de l'agitation a été réalisée en agrandissant le volume des erlens. Ce qui a réduit les temps d'hydrolyse à 2H avec toutes les charges testées (**Figure II-7)**.

Conclusion : Un rapport deE/S =300 CEIP/g d'amidon (18 CEIP/g MF) est efficace dans des milieuxplus chargés (100g MF/100ml,150g MF/100ml et 200g MF/100ml). Un résultat similaire a été trouvé par **Cherifi. N et Benaissa. F, 2020**).

e)Effet du temps de cuisson sous pression:

l'objectif de cette partie est de minimiser le plus possible le temps du traitement thermique afin de rendre le procédé plus économique. Pour cela nous avons testé des temps de cuisson différents(sous pression à130°C) en milieu le plus concentré (200g MF/100ml)avec le rapport optimal E/S (300 CEIP/g d'amidon ; 18 CEIP/g MF).

Méthode :

-Préparer des suspensions d'épluchures à 200g MF/100ml cuites sous pressionet broyées. Les temps de cuisson testés sont de 15min, 30min, 45min.

-Commencer l'hydrolyse dans un bain-marie à 55°C, en ajoutant à chaque suspension **4ml** d'enzyme dilué **(1/50) (Rapport E/S optimal de 300CEIP/g d'amidon, 18CEIP/g MF).**

-Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N)pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu avec 2ml d'iodine (0,001N). Le prélèvement révélé à l'iodine est dilué au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blancjusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif) **(Figure II-8)**.

Résultat et Discussion :

Les résultats illustrés surla (**Figure II-8),** nous montrent bienque quelque soitle temps de cuisson sous pression(15min, 30min et 45min)les épluchuresà forte concentration (200g MF/100ml) sont hydrolysées au bout de 2h. Nous avons donc fixé le temps de cuisson sous pression (130°C) à 15min. Ce temps optimal permet de réduire dépenses en énergie thermique.

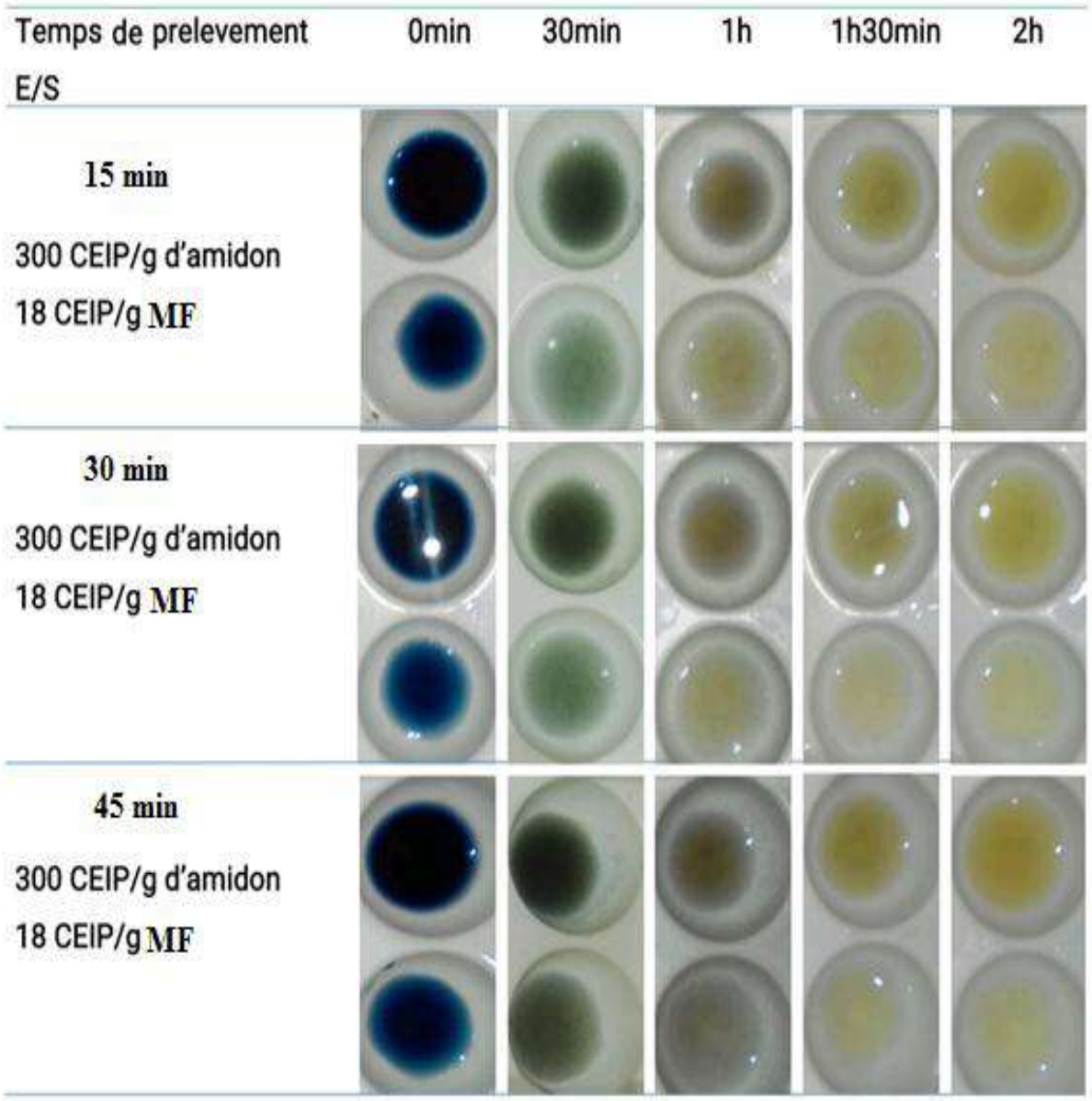


Figure II-8 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon /l)dispersées à 130°C à différentsle temps de cuisson.

f) Cuisson sans pression (A 100°C): Effet du temps de cuisson.

Pour plus d'économie en energie, nous avons pensé à réduire la température de cuisson et de tenter une cuisson sans pression à 100°C. Vu que le temps de cuisson est un facteur très important, nous avons varié ce dernier afin de voir si la cuisson sans pression est possible et à quelle durée ?. Ces expériences ont été réalisées dans un milieu chargé (200g MF/100ml) avec le rapport optimal E/S (300 CEIP/g d'amidon ; 18 CEIP/g MF).

Méthode :

-Préparer des suspensions d'épluchures broyées (200g MF/100ml de tampon pH6), cuites à 100°C (sous pression atmospherique). Les temps de cuisson testés sont 15min, 30min, 45min et 1h.

-Commencer l'hydrolyse dans un bain-marie à 55°C , en ajoutant à chaque suspension 4ml d'enzyme dilué (1/50).

-Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N) pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu Avec 2ml d'iodine (0,001N). Le prélèvement révélé à l'iodine est dilué au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blancjusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif)**(Figure II-9).**

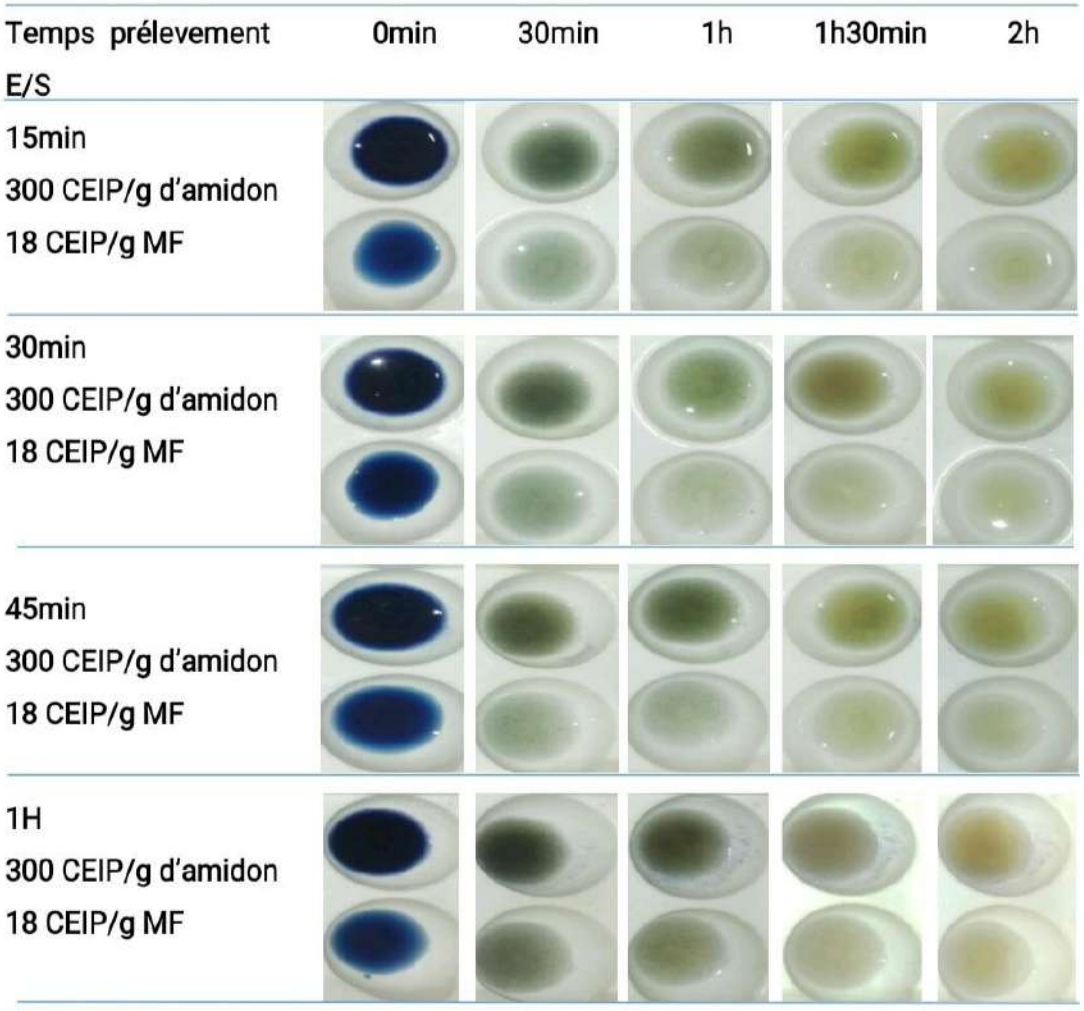


Figure II-9 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon /l)cuite à 100°C à différentstemps de cuisson.

Résultat et Discussion :

Les résultats illustrés sur la (**Figure II-9)**montrent bien quele temps de virage de la couleur est situé aux environs de 2h quelque soit le temps de cuisson sans pression. Cependant, le virage de la couleur apres révélation à l'iodine est plus nette en augmentant le temps de cuisson. Le broyage étaient plus difficiles apres cuisson à 100°C et il necessite un temps de cuisson prolongé car le milieu est plus concentré en substrat. Pour cela, nous avons retenu les conditions optimales suivantes pour le traitement thermique : une cuisson sous pression à 130°C pendant 15min. Sous ces conditions, la qualité du broyât ainsi que sa texture permet d'obtenir une meilleur liquéfaction.

II.3.2. Attaque par une Alpha amylase thermostable :

L'idée d'utiliser une enzyme liquéfiante thermoresistante repose sur le faite de pouvoir travailler à une température élevée qui permet en parallele le gonflement et la dispersion de l'amidon avec son hydrolyse enzymatique. la plage de température de travail proposée par le fournisseur de l'enzyme est de 85-95°C. Nous avons donc opté pour l'attaque des épluchures fraiches broyés non traitées thermiquement.

a) Essais préliminaires :

Expérience 1:

-Préparer deux suspension de 200g d'épluchures pommes de terre fraichesbroyées dans 100 ml de tampon pH6 (sans traitement thermique).

-Placer les suspensions sur une plaque chauffante et les faire bouillir 1 à 2 min. Laisser refroidir entre 85 et 95°C et ajouter (100mg, 200mg) d'enzyme sous agitation.

- Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N) pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu avec 2ml d'iodine (0,001N). Le prélèvement révélé à l'iodine est dilué au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blancjusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif) **(Figure II-10)**.

Résultats et discussion :

Absence de virage de la couleur du réactif apres révélation même en prolongeant la réaction au-delà de 2H **(Figure II-10)**. Nous n'avons pas donc une hydrolyse de l'amidon . Il faut signaler que le protocole de traitement sur plaque chauffante a été décrit par le fournisseur et les quantités d'enzyme testées (200mg, 100mg) sont 10 fois et 5 fois plus

importantes par rapport à la quantité décrite par le fournisseur. Nous avons donc une possibilité de dénaturation de l'enzyme sur plaque chauffante puisque le chauffage est directe.

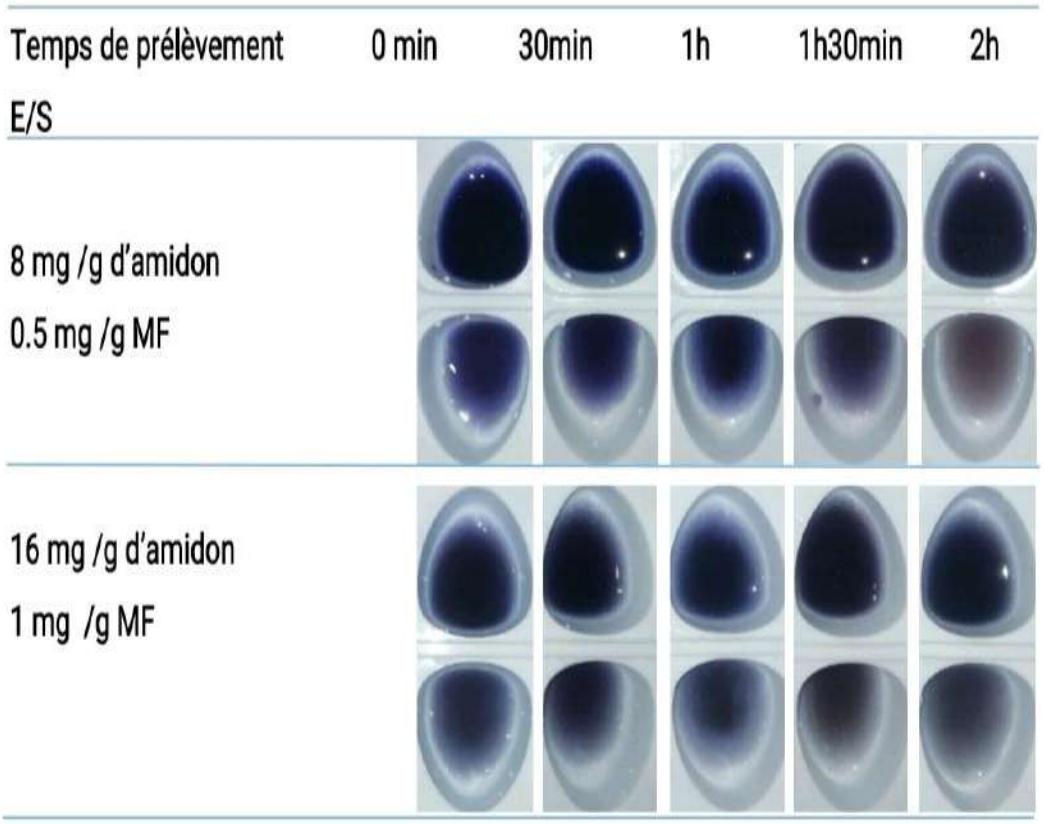


Figure II-10 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon/l) non traitées thermiquent en utilisant une alpha-amylase thermostable (sur une plaque chauffante).

Expérience 2 :

-Préparer une suspension de 200g d'épluchuresde pomme de terre fraichesbroyées dans 100 ml de tampon pH6 (sans traitement thermique).

-Placer les suspensions sur une plaque chauffante et les faire bouillir 1 à 2 min. Laisser refroidir entre 85 et 95°C dans unmontage bain marie**(Figure II-11)**. Ajouter 200mg d'enzyme**.**

- Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N) pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu avec 2ml d'iodine (0,001N). Le prélèvement révélé à l'iodine est dilué au 1/5.

L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blancjusqu'à changement de la couleurbleu violacée au jaune (couleur du réactif)**(Figure II-12).**



Figure II-11 :Montage bain marie

Résultatet discussion :

Absence de virage de la couleur du réactif apres révélation même en prolongeant la réaction au-delà de 2H **(Figure II-12)**. Nous n'avons pas donc une hydrolyse de l'amidon . Il faut donc essayer le traitement thermique des épluchures de pommes de terre.

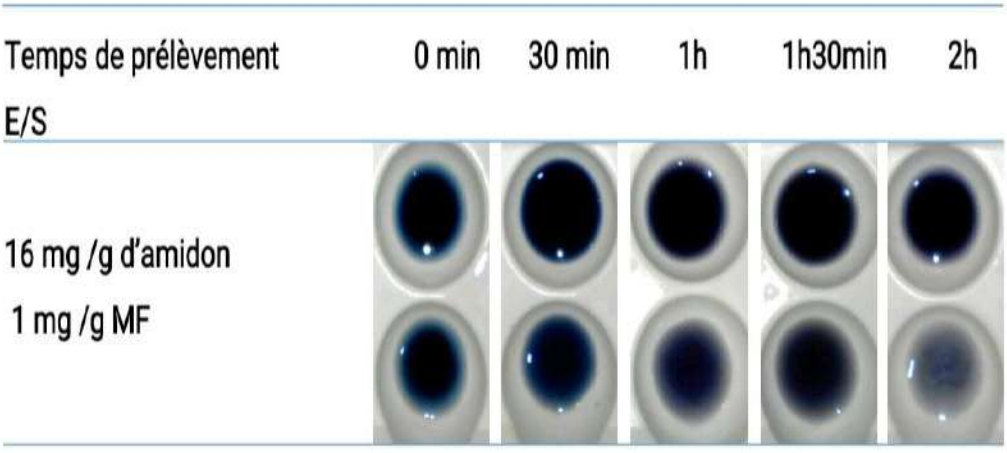


Figure II-12 : Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon/l) non traitées thermiquent en utilisant une alpha-amylase thermostable (En montage bain marie).

Expérience 3 :

-Préparer une suspension de 200g d'épluchuresde pomme de terre fraichesdispersées sous pression à 130°C pendant 15min et broyées dans 100 ml de tampon pH6.

-Placer la suspensiondans unmontage bain marie sur une plaque chauffante réglée entre 85 et 95°C**(Figure II-11)**. Liquéfier avec une quantité plus importante en alpha-amylase thermostable (300mg).

- Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N) pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu avec 2ml d'iodine (0,001N). Le prélèvement révélé à l'iodine est dilué au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blancjusqu'à changement de la couleurbleu violacée au jaune (couleur du réactif)**(Figure II-13).**

Résultats et discussion :

Nous avons enregistré un virage nette de la couleur après révélation à l'iodine au bout de 3h. Cependant la température n'était pas totalement stable, car nous avons eu un refroidissement jusqu'à 70°C.Nous proposons pour la suite de notre travail :

- de disperser les épluchures sous pression à 130°C pendant 15min, car une marge de température située entre 85 et 95°C est insuffisante pour bien disperser notre amidon et le rendre accessible à l'attaque enzymatique,
- de travailler au bain marie dans des flacons fermés afin de maintenir la température à la marge optimale et d'éviter l'évaporation du milieu réactionnel.

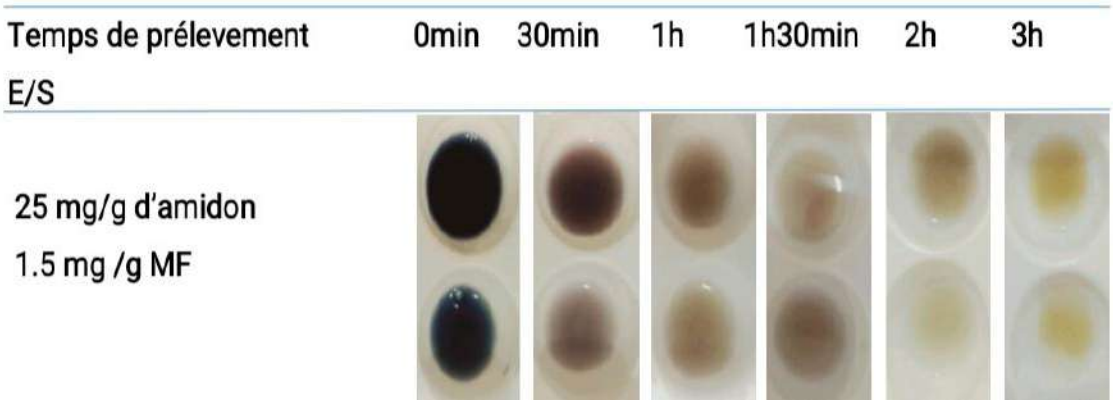


Figure II-13 :Résultats de la liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 200g MF/100ml (120g d'amidon/l) traitées thermiquent en utilisant une alpha-amylase thermostable (En montage bain marie).

b) Optimisation du rapport E/S :

-Préparer des suspension de 50g d'épluchures cuites sous pression pendant 15min, broyées avec 100ml de tampon pH6.

-Laisser chauffer au bain marie dans des enlenmayers fermés jusqu'à stablilisation de la température à la marge optimale (85°C-95°C)

-Ajouter dans chaque suspension une quantité d'alpha-amylase thermostable. Cette masse varie de 5mg jusqu'à 250mg (5, 10, 15, 25, 50, 75, 100, 150, 175, 200, 225, 250) mg.

- Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N) pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieu avec 2ml d'iodine (0,001N). Le prélèvement révélé à l'iodine est dilué au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blancjusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

Résultats et discussion :

En répétant nos expériences, nous avons enregistré :

- Une hydrolyse rapide (aux environs de 85°C)où un virage de la couleur du milieu est obtenu à partir de 1heure d'hydrolyse pour des quantités en enzyme allant de 25mgà 100mg (E/S= 8 mg/g d'amidon ; 0.5 mg/g MF → 33 mg/g d'amidon ; 2 mg/g MF). Un rapport E/S optimal est dans ce cas de (16 mg/g d'amidon ; 1mg/g MF) ce qui correspond à une quantité de 50mg d'enzymes par 50 g de MF **(Figure II-14).**

- Une hydrolyse plus lente (aux environs de 90°C) où le virage a été obtenu à partir de 1h30 pour des quantité en enzyme de 75mg (E/S=25 mg/g d'amidon , 1.5 mg d'enzyme/g MF) et 100mg (33 mg/g d'amidon, 2 mg/g MF). Un rapport E/S optimal est dans ce cas de (33 mg/g d'amidon ; 2mg/g MF) ce qui correspond à une quantité de 100mg d'enzymes par 50 g de MF **(Figure II-15).**

Il est claire et nette que la température a son influence : l'enzyme est stable dans une plage de température allant de 85°C et 95°C mais elle est plus rapide dans la limite inférieure de cette plage de température.

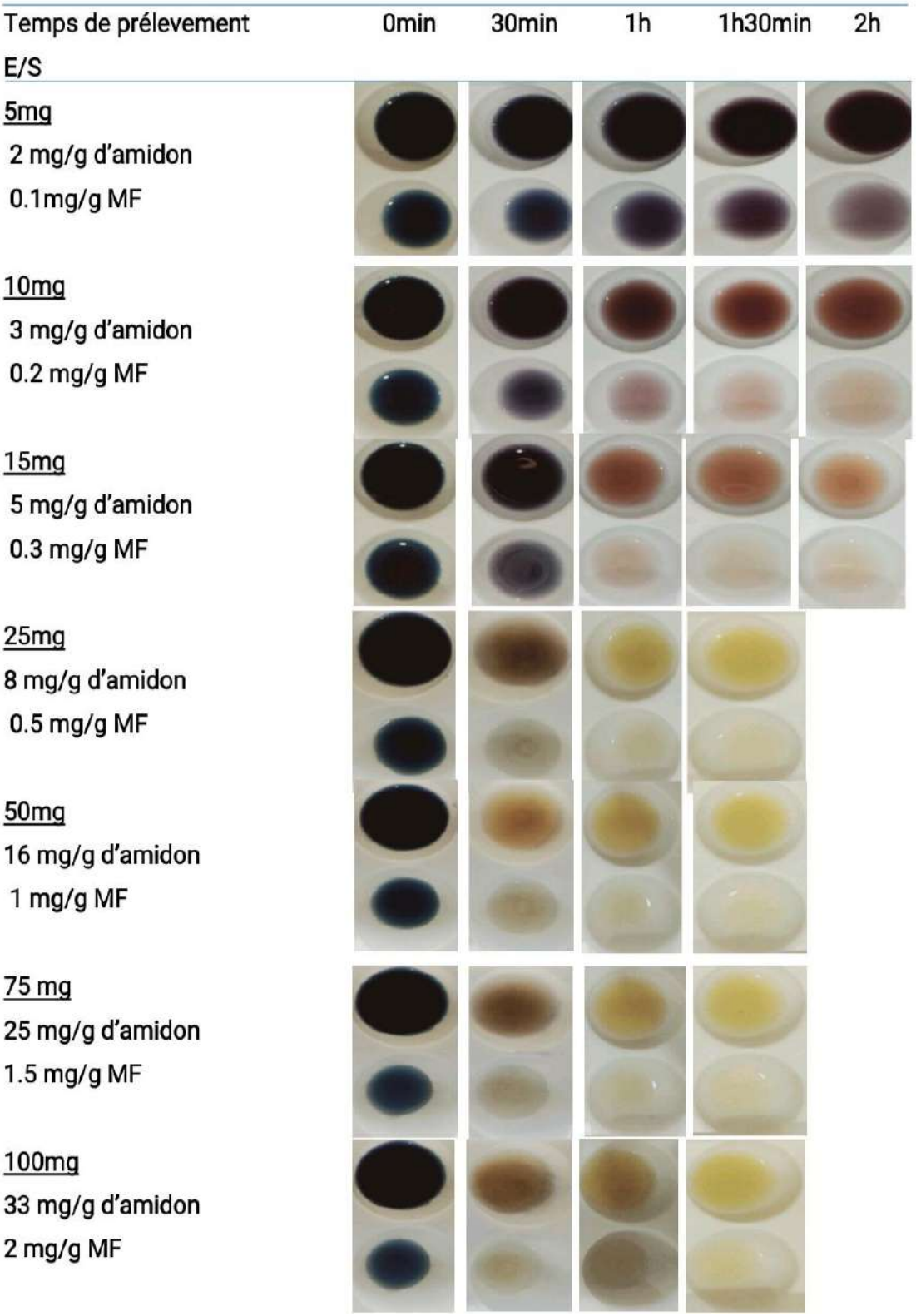


Figure II-14 : Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/l dispersées sous pression et traitées par l'alpha-amylase thermostable entre(5mg et 100mg). (T°=85°C).

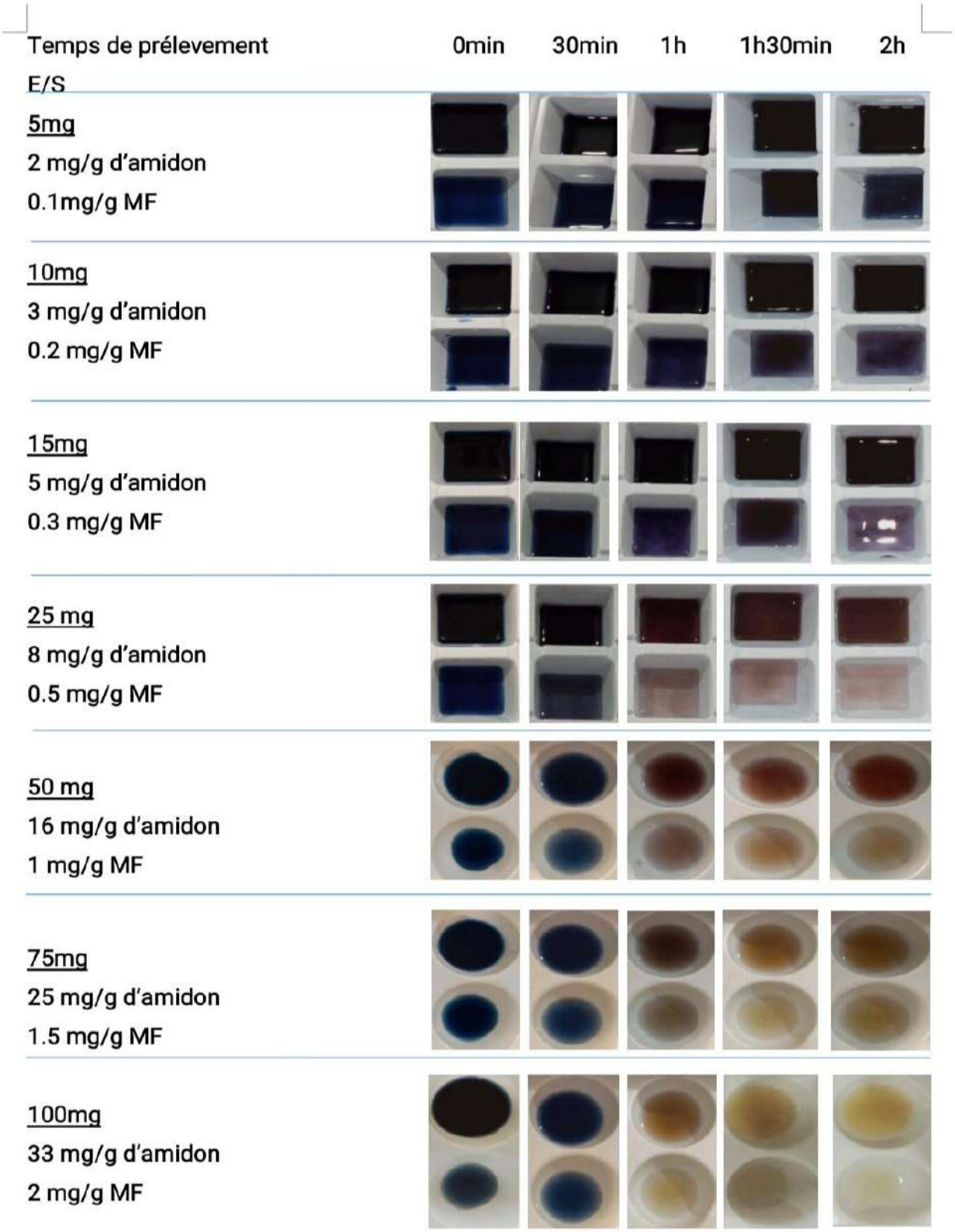


Figure II-15 : Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/l dispersées sous pression et traitées par l'alpha-amylase thermostable entre (5mg et 100mg). (T°=90°C)

Aussi, nous pensons que la naturehétérogène des épluchures joue son rôle. Il suffit qu'un échantillon soit un peu pauvre en amidon que la cinétique soit rapide pour des quantités moindre en enzymes. La preuve que lorsqu'on test des quantité d'enzyme supérieures à 100mg (en excé), la cinétique est tres rapide à aboutit à un virage de la couleur de milieu au bout de 30min quelque soit la plage de température appliquée **(Figure II-16).**

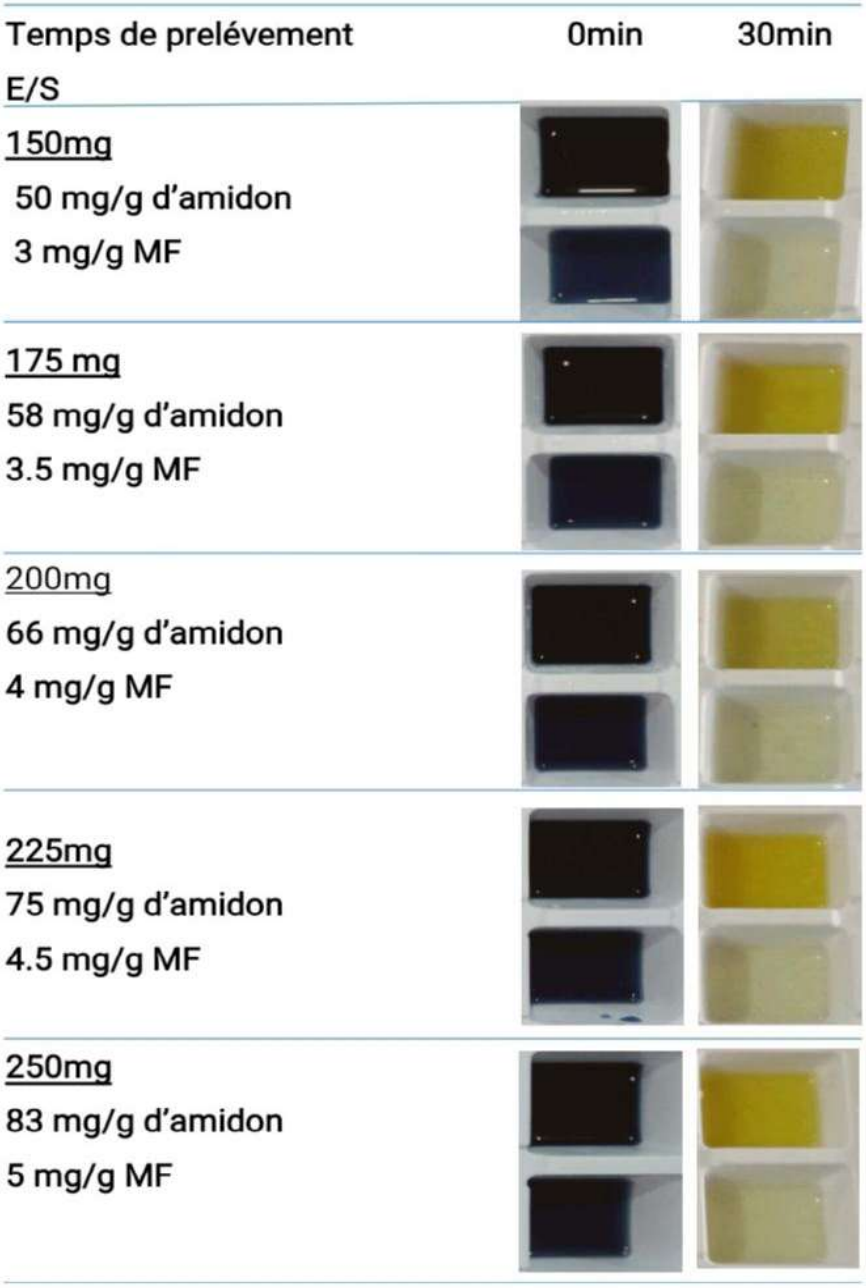


Figure II-16: Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 30g d'amidon/l dispersées sous pression et traitées par l'alpha-amylase thermostable entre (150mg et 250mg). (T°=85°C-90°C)

En tenant en considération, la température ainsi que la charge des échantillons sans gaspillage de l'enzyme, un rapport optimale globale est situé e entre (16 mg/g d'amidon ; 1 mg/g MF) et (33 mg/g d'amidon, 2 mg/g MF) en gardant la température dans la limite inférieure (càd aux environ de 85°C). Dans ce cas le temps de l'hydrolyse est aux environs de 1heure.

Enfin, une étude cinétique détaillée de cette enzyme est souhaitable dans un future proche en utilisant de l'amidon soluble afin de la caractériser correctement et de detérminer sa température optimale, son pH optimum, sa courbe de saturation, les activateurs et le inhibiteurs possibles.

c) Liquéfaction en milieu concentré:

Dans cette partie, nous avons testé deux rapports E/S optimaux en milieux concentré :

- Un rapport optimal moyen **25 mg/g d'amidon ce qui correspond à 1.5 mg/g MF**
- Un rapport optimal maximal (ou supérieur) de **33 mg/g d'amidon ce qui correspond à 2 mg/g MF.**

Nous avons évité le rapport optimale minimal **(16 mg/g d'amidon ce qui correspond à 1 mg/g MF)**afin de prendre en considération les échantillons chargés en amidon ainsi qu'une mauvaise régulation de la température.

Méthode :

-Préparer deux suspensions de 100g/ 100ml et de 200g/100ml d'épluchures cuites sous pression pendant 15min et broyées dansdu tampon pH6.

-Après stabilisation de la température aux environs de 85°C au bain marie, ajouterdes quantités de (150mg et 200mg) aux suspensions de 100g/100ml et des quantités de (300mg et 400mg) aux suspensions de 200g/100ml.

-Prélever 1ml du milieu réactionnel chaque 30 min et ajouter 2ml de HCl (0.2N) pour arrêter la réaction. Le suivie de l'hydrolyse s'effectue en testant directement le milieuavec 2ml d'iodine (0,001N). Le prélèvement révélé à l'iodine est dilué au 1/5. L'examen de la couleur s'effectue directement sur une plaque à fond blancjusqu'à changement de la couleur bleu violacée au jaune (couleur du réactif).

Résultats et Discussion :

Le temps de virage de la couleur après révélation à l'iodine est de 30min avec les deux rapports **(Figure II-17 et Figure II-18)**:

- **25 mg/g d'amidon ce qui correspond à 1.5 mg/g MF.**
- **33 mg/g d'amidon ce qui correspond à 2 mg/g MF.**

Nous signalant que l'hydrolyse en milieu concentré a permis une meilleur stabilité de la température, donnant un bon virage pour un temps un peu plus court que celui obtenu en milieu dilué (1h). Ceci nous confirme une fois de plus que la charge de l'échantillon (hétérogène et variable autour d'une moyenne de 6%) pourrait être aussi un facteur qui influence la rapidité de la réaction.

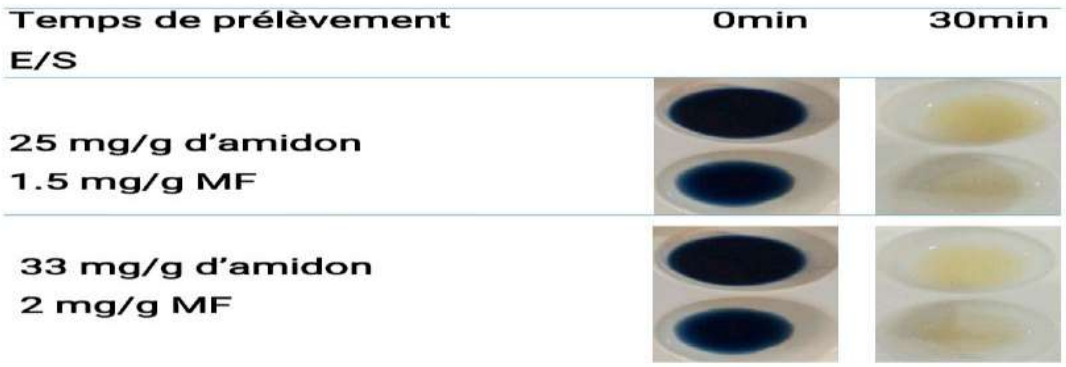


Figure II-17 : Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 60g d'amidon/l (100g MF/100ml) dispersées sous pression et traitées par l'alpha-amylase thermostable aux optima E/S.



Figure II-18 : Liquéfaction des épluchures de pommes de terre fraîches à 120g d'amidon /l (200g MF/100ml) dispersées sous pression et traitées par l'alpha-amylase thermostable aux optima E/S.

II.4 Saccharification:

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

II.4.1.Influence de la concentration de la gluco-amylase :

Détermination du rapport E/S:

Le but de cette partie est la détermination du rapport ($m_{Glucoamylase}/m_{amidon\ liquéfié}$) optimal qui donne un rendement de sacchrification satisfaisant sans gaspillage de l'enzyme.

Méthode:

- Préparer quatre suspensions de pomme terre dispersées à 130°C pendant 15min et broyées dans 100ml de tampon pH6.
- Liquéfier dans les conditions optimales par l'une des deux alpha-amylase (BAN alpha-amylase ou alpha-amylase thermostable) pendant 2h.
- Passer à la saccharification : des quantités de glucoamylase ont été ajoutées aux suspensions après rectification du pH et stabilisation de la température : 2.5g/100ml (25g/l) , 1.28g/100ml (12.8g/l) ; 0,64g/100ml (6,4g/l), 0.32g/100ml (3.2g/l). D'une façon générale, la saccharification a été réalisée au bain marie sous agitation à pH=4; à 50°C pour une durée de temps de 4H. Durant ce temps, des prélevements ont été réalisés à des temps définis afin de doser le glucose libéré selon la méthode enzymatique décrite en **(Annexe 2).**

RésultatsetDiscussion :

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

Pour une concentration en amidon liquéfié de 3g/100ml (30g/l) (50g MF liquéfiées /100ml), les rapports ($m_{Glucoamylase}/m_{amidon\ liquéfié}$) sont les suivants :

- 2.5g/100ml (25g/l): 0,83 g/g amidon liquéfié (50mg/gMFliquéfiées)
- 1.28g/100ml (12.8g/l): 0,43 g/g amidon liquéfié (25,6mg/gMFliquéfiées)
- 0,64g/100ml (6,4g/l): 0,21 g/g amidon liquéfié (12,8mg/gMFliquéfiées)
- 0.32g/100ml (3.2g/l): 0,11 g/g amidon liquéfié (6,4mg/gMFliquéfiées)

A partir des résultats **(Figure II-19)**, nous avons une libération importante de glucose dans le milieu. La quantité est maximale à partir de 2 heures et elle varie de 42g/l pour une concentration en glucoamylase de ***25g/l (2.5g/100ml) jusqu'à*** 15g/l une concentration en glucoamylase de 3,2g/l ***(0.32g/100ml).***

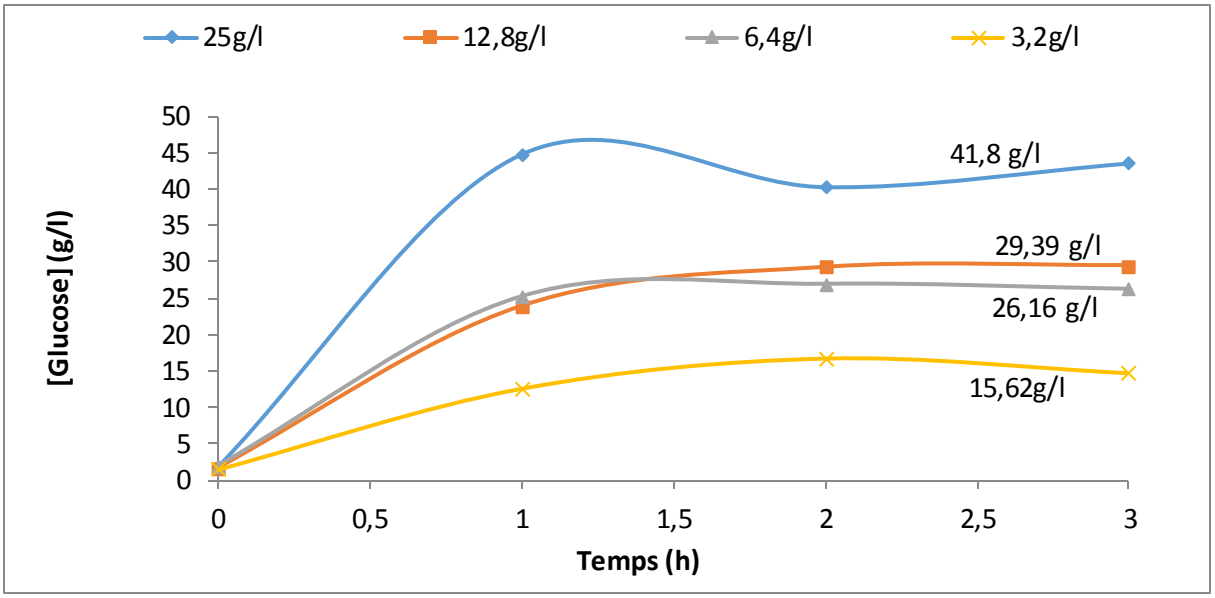


Figure II-19 : Saccharification des épulchures de pomme de terre (50g MF/100ml), traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en variant la concentration de la glucoamylase.

Le calcul des rendement de saccharification aux différents rapports E/S testés **(Figure II-20)**, nous montre bien qu'un rendement appréciable a été obtenue pour le rapport0,83 g/g amidon liquéfié (50mg/g MFliquéfiées) (95%). Ce rapport optimal est maintenu pour la suite de notre travail.

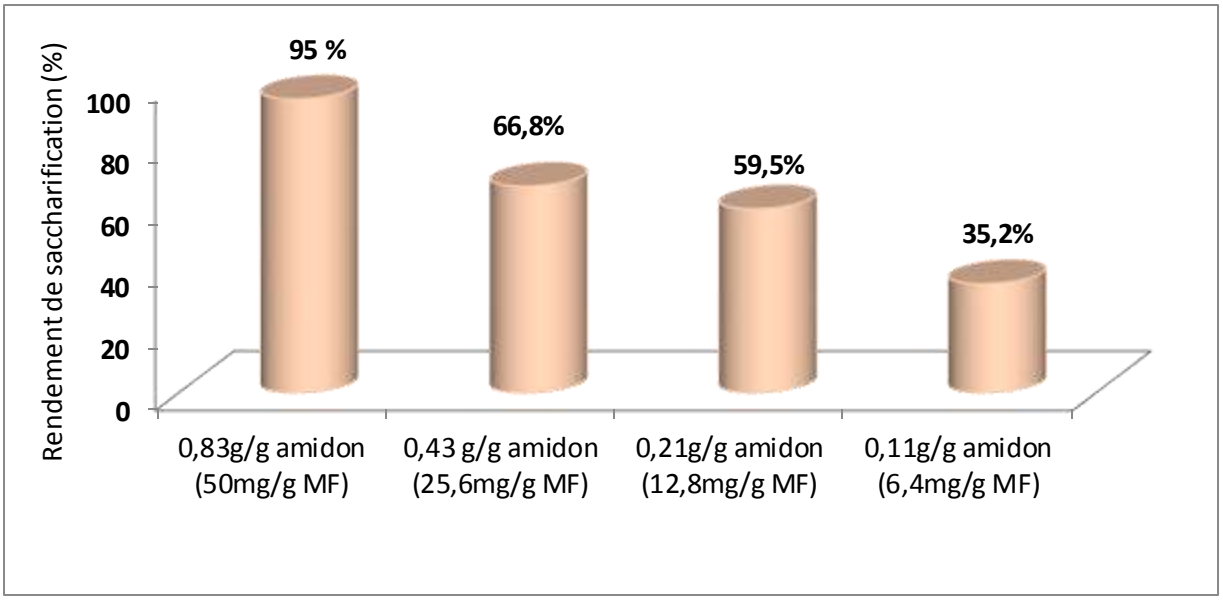


Figure II-20 : Rendement de saccharification des épulchures de pomme de terre (50g MF/100ml), traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en variant le rapport E/S.

Il faut dire que la quantité de glucoamylase qui permet d'aboutir à un rendement appréciable est comme même importante par rapport à la quantité utilisée lors de la saccharification des amidons pures et solubles : Selon une étude réalisée par**Absesslam. I et Bennia**. **N, 2016**un rendement maximal de saccharification (= 61%) a été obtenu à partir d'une solution d'amidon à 30g/l liquéfiée et sacchraifiée pendant 5h en utilisant de la glucoamylase à 640mg/l soit un rapport E/S de 21,3mg/g d'amidon.

II.4.2. Saccharification en milieu concentré pour le rapport E/S optimal :

Le but de cette partie est de voir si la saccharification fonctionne avec le même rendement en milieu concentré, en utilisant le rapport optimal : 0,83 g/g amidon liquéfié (50mg/gMFliquéfiées).

Méthode :

Nous appliquons la même méthode de saccharification précédente. Nous varions seulement deux facteurs :

- la charge des suspensions traitées thermiquement, broyées et liquéfiées : 100g MF/100ml,150g MF/100mlet200g MF/100ml.

- la quantité de glucoamylase : les suspensions sont additionnées de 5g/100ml, 7.5g/100ml et 10g/100ml respectivement, ce qui maintien le rapport E/S à 50mg/g MFliquéfiées (0,83 g/g amidon liquéfié).

Résultats et discution :

Notre but est de savoir si la glucoamyse est inhibée en milieu chargé par le produit issus de son hdrolyse : le glucose. Les résultats obtenus sont représentés sur la **(Figure II-21)**

Les quantités de glucose libérées sont proportionnelles à la charge du milieu. Plus ce dernier est chargé, plus les concentrations enregistrées en glucose sont importantes : elles varient entre (63g/l) pour 100g MF/100ml et (126g/l) pour 200g MF/100ml. Le rendement globale de la saccharification est donc aux environs de 90% en milieu concentré.

La glucoamylase fonctionne bien en milieu chargé et elle n'est pas inhibée par des concentrations élevées en glucose.

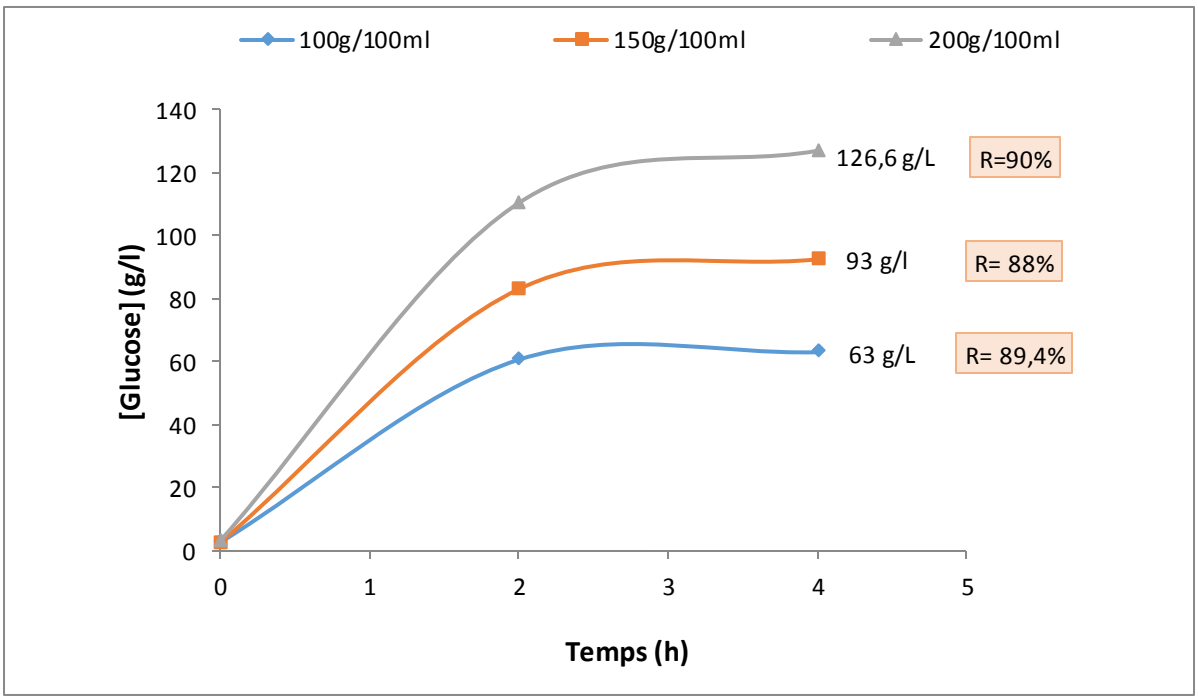


Figure II-21: Saccharification des épluchures de pomme de terre (100g MF/100ml, 150g MF/100ml, 200g MF/100ml) traitées thermiquement, broyées et liquéfiées en utilisant de la glucoamylase au rapport E/S optimal.

II.5. Fermentation et séparation de l'éthanol :

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

Méthode:

Des suspensions de charge croissantes (50g MF/100ml,100g MF/100ml,200g MF/100ml)ont été préparées en passant par:

- Une dispersion sous pression à 130°C pendant 15min,
- Un broyage mécanique,
- Une liquéfaction de 2 heures en utilisant de la BAN-alpha-amylase, ou l'alpha-amylase thermostable dans les conditions optimisés,
- Une saccharification de 2heures à 3 heures en utilisant de la gluco-amylase dans les conditions optimisées.

Pour pouvoir effectuer des prélevements sans diminuer considérablement le volume totale du milieu, nous avons préparé pour chaque charge testée 6 suspensions de 100ml. Apres traitement thermique, liquéfaction et saccharification, les suspensions sont mélangées. Le pH est ajusté à 5 et le mélange est autoclavée à 120°C pendant 20min. Ce mélange est considéré comme milieu de culture destiné à la fermentation : il n'est pas additionné de sources d'azote, ni de source de phosphore, car les épluchures contiennent des éléments qui peuvent servir de sources alternatives.

Le milieu est ensuite ensemensé devant un bec bunsen par 6g de levure boulangère, et mis sous agitaion dans un agitateur seoueur. Pendant la fermentation des prélevements de (10-15ml) ont été réalisés afin de déterminer : le pH, la biomasse sèche, la concentration du substrat (Glucose) et la concentration du produit (éthanol)(par un capteur Ethanol).

Lorsque le glucose est complètement consommé, nous jugeons que la fermentation est terminée. Le moût de fermentation est grossierement filtrépuis placé dans un ballon et chauffé aux environs de 78°C **(Figure II-22)** afin de le distiller l'éthanol et le séparer de l'eau (température d'ébullition ≈90°C). La quantité de l'éthanol dans le distillat est déterminée par réfractométrie ou en utilisant la courbe de densité **(courbes d'étalonnage en(Annexe 2))**.

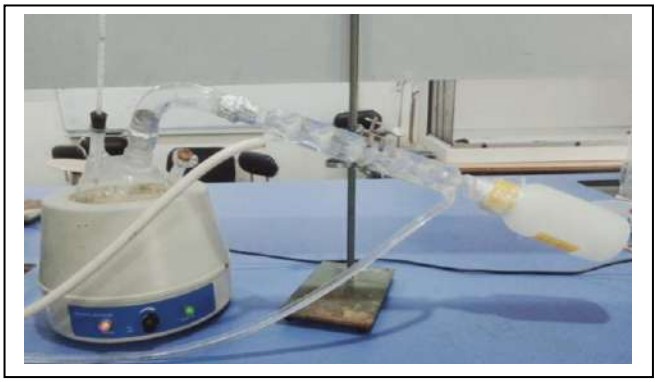


Figure II-22 : Montage de distillation

Résultats et discuion :

Il faut signaler que toutes les charges ont été traitées dans les conditions optimales : Elles sont bien liquéfiées et saccharifiées avec des rendements appréciables (86% et 91%), donc le taux, le rendement de production d'éthanol ainsi que la durée de fermentationdépondent uniquement de la richesse du milieu de production en glucose et en facteurs favorisant cette fermentation. La qualité de la levure : organisme de bioconversion joue aussi son rôle.

Selon les résultats représenté sur la**(Figure II-23),** nous notons que :

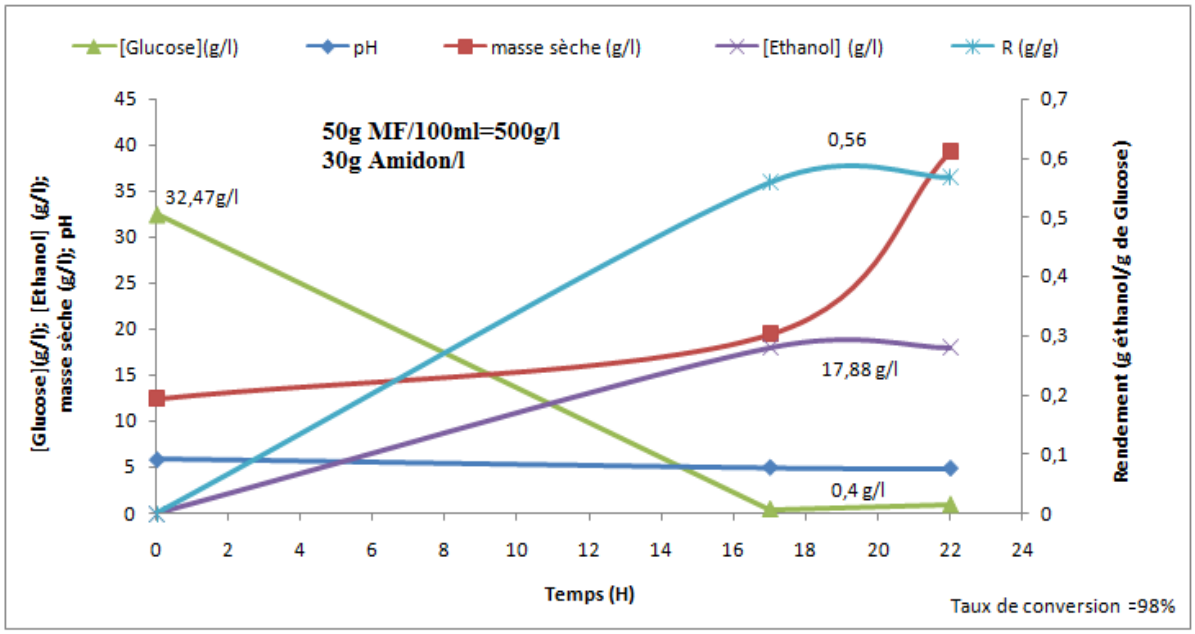
- Lorsque le milieu de fermentation est issu de la saccharification des épluchures à **50g/100ml (500g/l)**, la concentration initiale en glucose (**32.47 g/l**) diminue significativement à **0.4g/l** au bout de **17h** donnant un taux de conversion **98%**. Le glucose consommé est transformé principalement en éthanol (**17,88g/l au bout de 17h**)avec un rendement maximal de (**0.56gd'éthanol/g de glucose**). Durant toute la période de fermentation, nous avons remaqué une lyse remarquable au niveau de la matière en suspension issus des épluchures. Cette lyse pourrait être l'origine de la source de carbone utilisée dans la croissance de la levure lors de la fermentation **(Figure II-22),** en plus des chaines glucidique non saccharifiées et qui peuvent être assimilées comme source de carbone ; car, le rendement de saccharification est de **91%**.
- Lorsque le milieu de fermentation est issu de la saccharification des épluchures à **100g/100ml(1Kg/l)**. La concentration initiale en glucose est plus importante **60,87 g/l**. Cette denière diminue significativement à **6,56 g/l** à partir de 24H (avec un taux de conversion 89%), donnant un taux d'éthanol de **32g/l** avec un rendement appréciable (**0.58 g** d'éthanol/g de glucose).Ce rendement dépasse un peu le rendement idéal (0,51g d'éthanol/g de glucose consommé), car il contabilise l'éthanol qui provient de la dégradation des chaines glucidiques

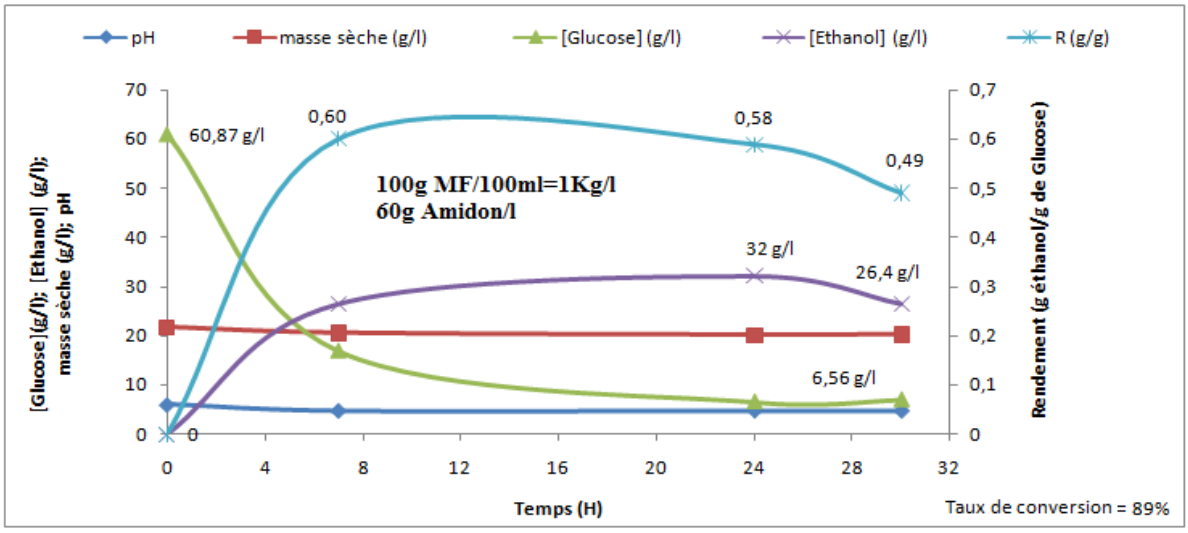
libérées lors de la liquefaction de l'amidon et qui ne sont pas saccharifiée à 100% (Rendement de la saccharification de **86%**). A partir de 24h, nous signalant une consommation de l'éthanol produit : le taux de ce dernier diminue à **26.4g/l** donnant une diminution durendement à (**0,49g d'éthanol/g de glucose**). Durant cette fermentation, la biomasse sèche est restée pratiquement stable. L'explication la plus probable est que l'augmentation de la biomasse est équilibrée par la diminution des matières sèches au cours de leur hydrolyse, ce qui donne une impression que la biomasse sèche globale est stable. Une autre explication est aussi possible : c'est que nous avons un effet limitant de la source d'azote, le taux de croissance est dans ce cas bas. La levure est vivante et elle ne fais que de la conversion du glucose en éthanol avec une croissance minimale.

- Lorsque le milieu de fermentation est issu de la saccharification des épluchures à **200g/100ml** (2Kg/l), la concentrations initiale en glucose (**128,72 g/l)** diminue au bout de 30h à **53g/l**, donnant de l'éthanol à une concentration de 36 g/l. Durant cette période, la biomasse était pratiquement stable : nous avons probablement une consommation de la matière en suspension compensée par la division cellulaire, ou une croissance minimale due à une limitation en source d'azote. Entre 30h et 56h, la consommation de glucose est ralentie (**53-48g/l),** le taux d'éthanol est stagnant **(36 g/l- 40,75g/l)**. A ce stade de la culture, la conversion du glucose en éthanol s'effectue à un rendement idéal : tous le glucose consommé est convertis en éthanol ; cependant, le taux de conversion du glucose était bas **(59%)**. Afin, de terminer la conversion du glucose restant, vons avons réalisé un ré-ensemensement à 4g de levure/l de milieu. A partir de cette opération, le glucose est consommé et sa concentration a diminué significativement à **2,79 g/l** (taux de conversion global de **98%**), donnant un taux de **74g/l** en éthanol, ce qui correspond à un rendement appréciable (**0.58g d'éthanol/g de glucose**).

Remarque : L'arrêt de la consommation du glucose est peut être due :

- soit au manque de la source d'azote qui deviens un facteur limitant compensé par l'hydrolyse des matières en suspension issus de la pomme de terre, ce qui fournis la source de carbone et de l'energie nécessaires à la multiplication de la biomasse. Dans ce cas, une supplémentation en azote ammoniacal est souhaitale dans un future proche afin d'éviter ce problème et raccourcir la phase de fermentation en milieu chargé.
- Soit à l'effet toxique de l'éthanol qui inhibe tout le métabolisme qui consomme le glucos et qui le produit en parallele. Le déclin final de la biomasse correspond à la lyse des cellules non viables ensemensées au début de la culture.





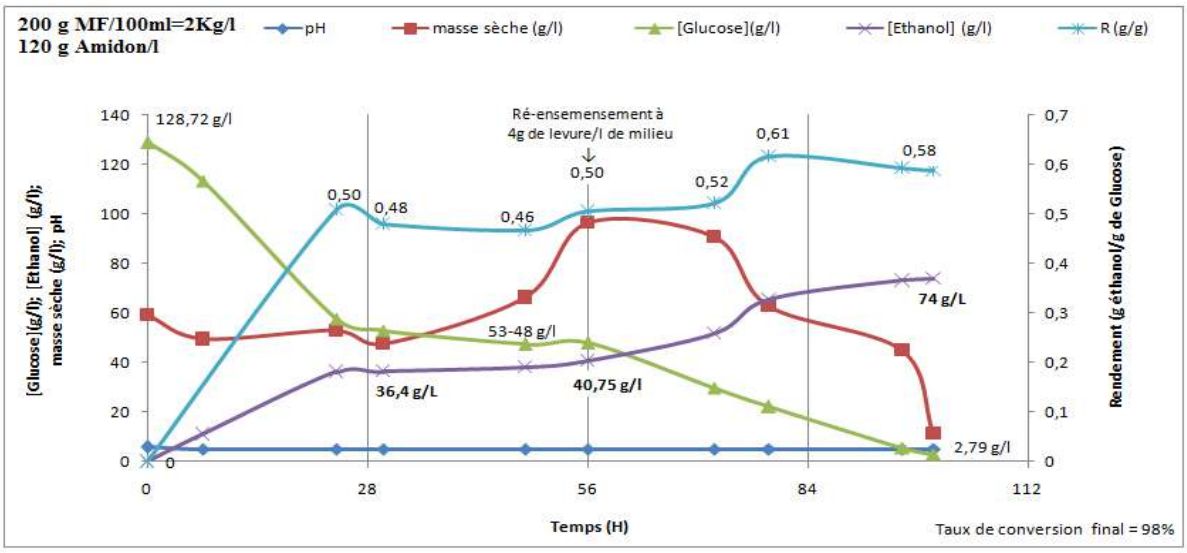


Figure II-23 : Résultats de la fermentation.

II.6 Analyse de l'éthanol récupéré :

L'éthanol distillé est contrôlé par deux méthodes :

- **Le test au dichromate de potassium :**

En milieu acide l'éthanol (CH3-CH2OH) est oxydé en Acide acétique (CH3-COOH) en présence de dichromates (Cr2O7-2). Ces derniers subissent une réduction en ions Cr3+ responsables de la coloration verte foncé de la solution.

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

Résultat :

D'après la (**Figure II- 24)**, après ajout du réactif de bichromate de potassium, nous avons un virage de la couleur de l'orange au vert qui commence avec l'ajout de l'acide sulfurique. La couleur devient plus foncée (vers le bleu) au cours du temps.

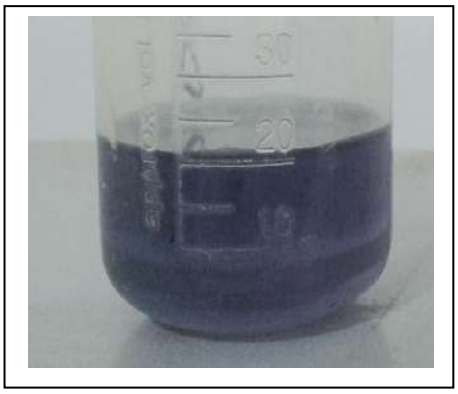


Figure II-24 : Résultat de la révélation d'un distillat au bichromate de potassium.

- **Le Flambage :**

La flamme bleue c'est un indicateur que l'éthanol est présent dans le distillat avec une concentration élevée. On prend un volume de notre distillat dans un verre de montre et on flambe le contenu de ce dernier**(Figure II-25)**.



Figure II-25 : Résultat du flambage du distillat.

- **Test de sensibilité bactérienne aux distillats :**

Nous avons réalisé un test de l'activité antibactérienne des distillats. Des souches tests ont été ensemencées en nappe sur le milieu Mueller et Hinton par écouvillonnage. Des disques en papier de 6mm sont imbibés par les distillats et déposés à la surface du milieu ensemencé. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 24h. La présence de zones d'inhibition indique que le distillat testé possède une action antibactérienne. Les souches testées sont *Escherichia coli*ATCC11105, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 et *Bacillus subtilis ATCC 6633*.

Résultat :

Il faut dire que nous avons réalisée ce test sur plusieurs distillats. Les distillats ayant des pourcentages massiques faibles n'ont pas d'activité. Nous avons noté de faibles zones d'inhibition avec un seul distillat de 60% **(Figure II.26)**avec deux genres bactériens.



Staphylococcus aureus ATCC6538*Bacillus subtilis ATCC 6633*

Figure II-26 : Résultat test de la sensibilité bactérienne vis-à-vis d'un distillat.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

L'Algérie –un grand pays consommateur de pommes de terre-rejette des quantités énormes de déchets solide ou liquide suite à sa consommation ou à sa transformation: pommes de terres impropres à la consommation, épluchures, eau de lavages riches en amidon. Ces déchets sont rejetés soit par le citoyen (déchets ménagers), par les restaurants (publiques, universitaires ou hospitalier) ou par l'industrie de transformation de la pomme de terre (usine de chips et de la purée). Nous pouvons donc exploiter largement ce déchet abondant dans notre pays.

L'objectif de notre mémoire est de valoriser les épluchures de pommes de terrecommesourced'amidonafin deproduiredu Bioéthanol.

Nous avons commencé notre travail par une caractérisation d'**épluchures** de pomme de terre. Il s'agitd'une ressource trés riche en eau (88%). La quantité de matières sèches constitue 12% dont 6%représente l'amidon.

La première étape de ce procédé est la liquefaction qui consiste à hydroliser l'amidon en dextrine par une méthode enzymatique en utilisant deux type d'alpha-amylase : la BAN-alpha-amylase et une amylase thermostable. . Cette opération n'est efficace que lorsque les épluchures de la pomme de terre sont traitées thermiquement sous pression à 130°C pendant 15min quelque soit l'alpha-amylase utilisée. L'amidon est totalement hydrolysé par la BAN-alpha-amylase au bout de 1H30min à 2H, dans les conditions optimales suivantes : une température de 55°C, un pH=6, un rapport E/S= 300CEIP/ g d'amidon équivalent à 18CEIP/g MF quelque soit sa charge dans le milieu d'hydrolyse (50, 100, 150, 200g MF/100ml). En utilisant l'alpha-amylase thermostable, , un rapport optimale globale est située entre (25 mg/g d'amidon ; 1,5 mg/g MF) et (33 mg/g d'amidon, 2 mg/g MF) à une température située aux environs de 85°C. Dans ce cas le temps de l'hydrolyse est aux environs de 30min à 1heure quelque soit la charge du milieu.

La deuxième étape de ce procédé est la saccharification, exercée à pH=4, à une température de 50°C sur des suspensions liquéfiées. Cette opération a aboutis à des rendements de dégradation appréciables maximum (88% et 95%) pour le rapport 0,83 g/g amidon liquéfié (50mg/g MF liquéfiées) même en milieux chargés en matières fraiches (pouvant aller jusqu'à 200g MF/100ml).

Enfin, notre bioéthanol a été produit par fermentation au bout de 17h à 4 jours selon la charge du milieu**.** Cette phase s'exerce à température ambiante, à un pH situé entre 4 et 5. Le taux maximal d'éthanol obtenu est de 17g/l à 74g/l avec un rendement de 0,57g d'éthanol /g glucose.

Le protocole optimal est donc constitué de trois phases :

- Une première phase de liquéfaction de 2 heures dans les conditions optimales,
- Une deuxième phase de saccharification de 3 heures dans les conditions optimales,
- Une troisième phase de 17H à 4 jours selon la charge du milieu. Cette phase pourrait être encore raccourcie en utilisant des supléments en azote ammoniacal.

En considérant la charge maximale liquéfiée, saccharifiée et fermentée, une concentration de 2 Kg MF/l produit 74 g Ethanol/l, ce qui correspond à un rendement réelle Y(P/MF) de 37g/Kg MF soit un volume en éthanol pure de 47ml /Kg MF. Une tonne d'épluchures produit donc 47 litres d'éthanol pure. Ce rendement est non négligeable vu qu'il est obtenu à partir d'un déchet. Une exploitation rationnelle et totale de ces épluchures en exploitant la totalité glucidique de ce déchet (6% amidon et 6% résidus principalement cellulosique), peut encore améliorer nettement ce rendement dans un future proche.

Références Bibliographique Et Annexes

Références bibliographiques :

A

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

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

Acourene, S, Ammouche.A,2012:Optimization of ethanol, citric acid, and α-amylase production from date wastes by strains of Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus niger, and Candida guilliermondii. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 39, 759–766.

Acourene S., 2013 : valorisation biotechnologique des dates de faible valeur marchande par la production de la levure boulangère, éthanol, acide citrique. Thèse de doctorat, École nationale supérieur d'agronomie El-Harrach Alger, Algérie.171 pages.

Alguilera F Peinado R. A .Millan C .Ortega J .M and Mauricio J.C.,(2006): Relationship

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

B

Bertrand T F., Céline J., Frédéric T., Léopold T N., Robert N., 2009 : Production directe d'éthanol à partir de l'amidon par Co-culture de deux souches de levures *Schwanniomycessp* et *Saccharomyces cerevisiae* : application à la bioconversion de l'amidon de manioc et de maïs. Syllabus Review, volume(1) : 28-35.

Ballerini Daniel,2006 :les Biocarburants état des lieux, perspectives et enjeux du développement', IFP publications, Editions TECHNIP .

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

Bahrani Seyed Amir 2012 : Modification des propriétés physico-chimiques de l'amidon par procédés hygrothermiques. Contribution a l'étude des transferts couples chaleur-masse. Université de La Rochelle.

Birckel Emeline , 2011 : Pharmacie enquête sur les connaissances et le mode de consommation d'alcool des femmes pendant la grossesse. Thèse de doctorat. Universite Henri Poincare - Nancy 1.

Ben Chaabane, F., Aldiguier, A.S., Alfenore, S., Cameleyre, X., Blanc, P., Bideaux., Guillouet, S.E., Roux, G. 2006: Very high ethanol productivity in an innovative continuous two-stage bioreactor with cell recycle. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 29(1), 49-57.

BoumenirSouhila.AzzouziFatiha,2019: Valorisationdessous-produitspolysaccharidiquespourlaproductiondebioéthanolparfermentationalcoolique.Mémoiredemaster. Université deDr YahiaFarésdeMédéa.

C

Cabal, M.M.C., Gatignol, C. 2005. La definition et les implications du concept de voiture propre. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques.

Cherifi Narimane.Benaissa Fatma zahra,2020: Valorisationdessous-produitspolysaccharidiquespourlaproductiondebioéthanolparfermentationalcoolique.Mémoire demaster. Université deDr YahiaFarésdeMédéa.

D

DUPRAT F.GALLANT D., GUILBOT A., MERCIER C.et ROBIN J.P1980 : L'amidon Dans Les Polymères Végétaux. 176-231. éd. Gauthier-Villars, Paris.

Didderen Isabelle, Jacqueline Destain, Philippe Thonart,**2008 :** Le bioéthanol de seconde génération, la production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique,Les presses agronomiques de Gembloux, p.11.

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

Daho Tizane , 2008 : Contribution a l'étude des conditions optimales de combustion des huiles végetales dans les moteurs diesel et sur les brûleurs : cas de l'huile de coton. Thèse de doctorat université d'Ouagadougou.

F

Fromentin.F, Dauriat A., Lucas H., Marchaud D., Sarlos G., 2000 :Caractérisation deFilière de production de bioéthanol dans le contexte helvétique. Revue l'officeFédérale de l'énergie, no69809, 120pages.

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

G

Gassara, F.;Brar, S.K.; Tyagi, R.D.; Verma, M.; Surampalli, R.Y,2010: Screening of agroindustrial wastes to produce ligninolytic enzymes by Phanerochaete chrysosporium. Biochem. Eng. J ,49, 388–394.

H

Hugues Paul, 2015 : Stratégies technologique et réglementaire de déploiement des filières bioénergies françaises. **.** Thèse Doctorat, l'École nationale supérieure des mines de Paris

Huchette. M, 1967 : la transformation de l'amidon pour usages industriels. Etablissements ROQUETTE Frères — SESTREM Pas-de-Calais — FRANCE et alimentaires. *Rev. Port. Quínt., 10, 16.*

I

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

K

Kaidi F., Touzi A., 2001 :production du bioéthanol à partir des déchets de dattes.Revue Energie Renouvelable. : Production et Valorisation – Biomasse, pages 75-78.

Kacimi Mohamed mehdi, **2008** : Analyse de secteur de l'éthanol selon les principes du développement durable .centre universitaire de formation en environnement en vue de l'obtention du garde de maitre en environnement. Thèse Doctorat .Université De Sherbrooke Canada.

Khan Muhammad Kamran , 2010 : Extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'homme (glucuronides) et étude physico-chimique de leur interaction avec la sérum albumine. Thèse de doctorat. Université d'Avignon.

M

Maréchale P.A. Martinez Poirier I. et Gervais P., (1999) :The importance of the Kinetics.

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

Malumba Paul, Janas Sébastien , Deroanne Claude , Masimango Thaddée, Béra François, 2010. Article : Structure de l'amidon de maïs et principaux phénomènes impliqués dans sa modification thermique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2011 **15**(2), 315-326.

Moss G,P (dir)" basic terminology of stereochemistry" pure appl chem. ,IUPAC vol 68 nol 12 1996 ,p 2193-2222 (ISSN 0033-4545 et 1365-3075,DOI10.1351/pac199668122193).

N

Nguyen. T, 2016 :« de la levure *Saccharomyces cerevisiae*par un systèmebiopolymérique multicouche : effet sur son activité métabolique en réponse aux conditionsdel'environnement». Thèse de doctorat Université de Bourgogne

Nehme Nancy , 2008: Etude des interactions entre *Saccharomyces cerevisiae* et *Oenococcus oeni* : impact sur la réalisation de la fermentation malolactique en cultures séquentielles et mixtes. Thèse de doctorat . L'institut National Polytechnique De Toulouse.

O

ONS ,2012 : Collection sur les statistiques de l'environnement, (disponible sur le site de l'ONS : www.ons.dz).

P

Pierre, A., Glaude, E D., Jean-Pierre R. L'évaluation des impacts sur l'environnement. 3 éd. Lavoisier, Canada,(2010) ; 42

Poitrat. E,' les biocarburants en France et en Europe (ADEM)', Lyon 2005

Pérez, S., et Bertoft, E.2010 : The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review. Starch/Staerke, 62(8), 389-420.

R

Ryu D.D. Kim Y.J. Kim J.H. (1984): Effect of air supplement on the performance of Continuonséthanol fermentation system.Biotechonogy and Bioengineering, 26(1), 12-16

Rhayour Khadija , 2002 : Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum , Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.

Revuz B., (1979). Microbiologie et industrie alimentaire (culture de la levure sur mêlasse). (Ed) Lavoisier. Paris, pp 113-120.**[48].**

Riess Julien , 2012: Intensification de la brique "fermentation alcoolique" de substrats betteraviers (et autres substrats) pour la production d'éthanol. . Thèse de Doctorat Université De Toulouse.

Rassaert Charles , 2012: Succès et déboires des biocombustibles au Brésil, et utilisation de la politique énergétique de l'éthanol . Thèse de doctorat. Université Paris-Sorbonne.

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

S

Sauer Jorgen, Bent W.Sigurskjold, Ulla Christensen,Torben P.Frandsen ,Ekatrena Mirgorodskaya, Matt Harrison, Peter Roepstorff , Birte Svensson , 2000 : glucoamylase :structure /fonction relationships and protein engenering .Biochemica Et Biophysica Acta 1543 (275-293).

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

Shigechi H., Koh J., Fujita Y., Matsumoto T., Bito Y., Ueda M., SatohE., Fukuda H., Kondo A., 2004-Direct production of ethanol from raw cornstarch via fermentation by use of a novel surface-engineered yeast straincodisplaying glucoamylase and alpha-amylase. AEM, volume70 (8):5037-40.

Scragg Alan.H,2009 : bio fuels Production,application and développement',CAB International .

Sall Hamath,**2007** '*programme spécial biocarburant*', Nouvelle Orientation De La Politique agricole 2007.

T

Touati Lounis,**2013 :**Valorisation des grignons d'olive Etude de cas: Essai de valorisation en Biocarburant', magister .

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

V

Villette J. 1991 : Relation structure-fonction de la cyclomaltodextrine glucanotransférase de Bacillus circulans E 192. Thèse USTL**.**

W

Wang D.I. Cooney C.L. Demain, A.L. Dunnill P. Humphrey A. Lilly M. (1979): Fermentation and enzyme technology. Wileyinterscience publication, New York.

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

Site 01: **IFPEN,2021(IFP Energies nouvelles):**https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/enjeux-et-prospective/decryptages/energies_renouvelables/quel-avenir-les-biocarburants

Site 02: Khelifa Litamine, 2018https://www.algerie-eco.com/2018/07/23/pomme-de-terre-lalgerien-consomme-plus-110-kg-de-pommes-de-terre-par-an/

Annexe01

Préparation des solutions

A) Solution d'amidon

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

-peser la masse d'amidon sec (poudre) versé dans 10ml d'eau distillée, bouillir en mélangeant.

-Jeter ensuite ce mélange chaud dans 80 ml d'eau froid en remuant vivement.

- Remettez dans une fiole et ajuster le volume à 100 ml.

B) La solution d'HCl (0.1N)

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

C) La solution de stockage (0.1N) :

-Dissoudre 3.17g d'iodine (I_2) et 10g da KI dans une fiole de 250ml.

-Ajouter un petit volume d'eau distillée et mélanger jusqu'à la dissolution totale.

-Ajuster le volume à 250ml par l'eau distillée.

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

D) solution de dosage (0.001N) :

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

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

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

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

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

Annexe 02

Courbes d'étalonnages

A) Dosage d'amidon :

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

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

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

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

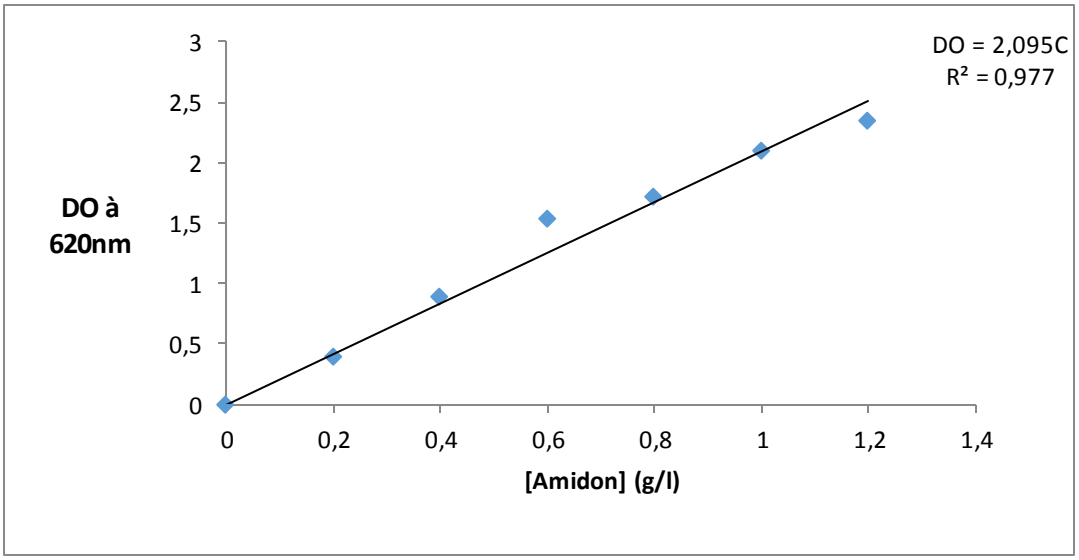


Figure II-27: *Courbe d'étalonnage* destinée au dosage de l'amidon par spectrophotométrie.

B) Dosage de glucose :

-Préparer une solution mère de 10g/l de glucose.

-Faire une gamme des dilutions allant de 1 à 5g/l à partir de la solution mère.
-Faire un dosage de 1 ml de réactif «QCA»+10 µl de chaque dilution.

-Mesurer l'absorbance à 505nm après une incubation à l'abri de la lumière pendant 25min à température ambiante.

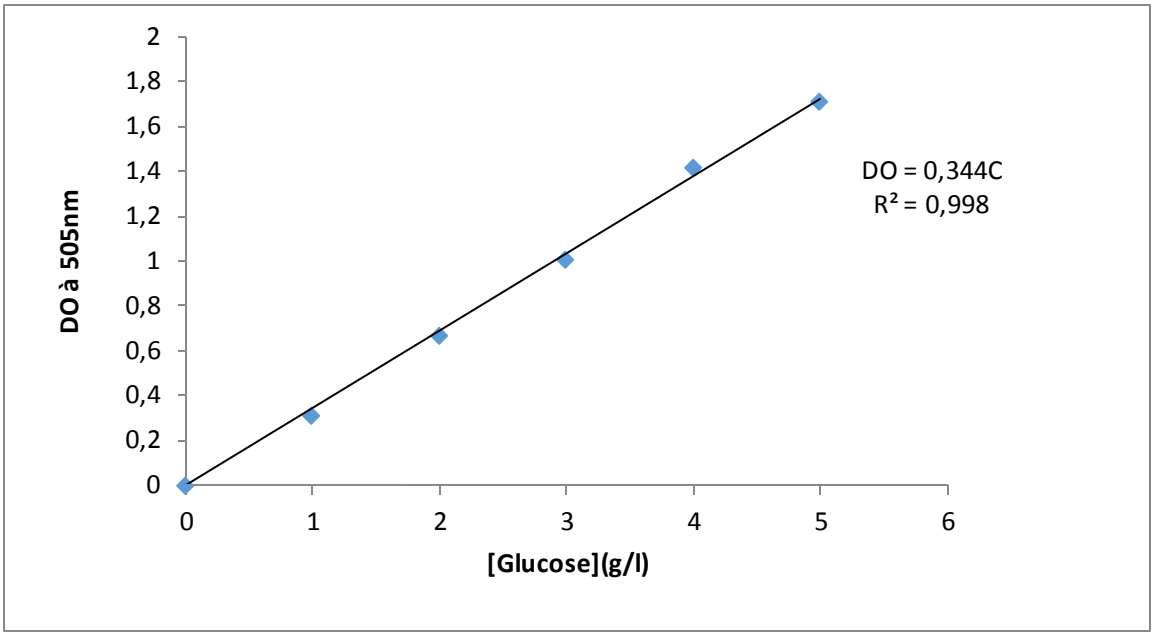


Figure II-28 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de glucose par spectrophotométrie.

C) Dosage d'éthanol :

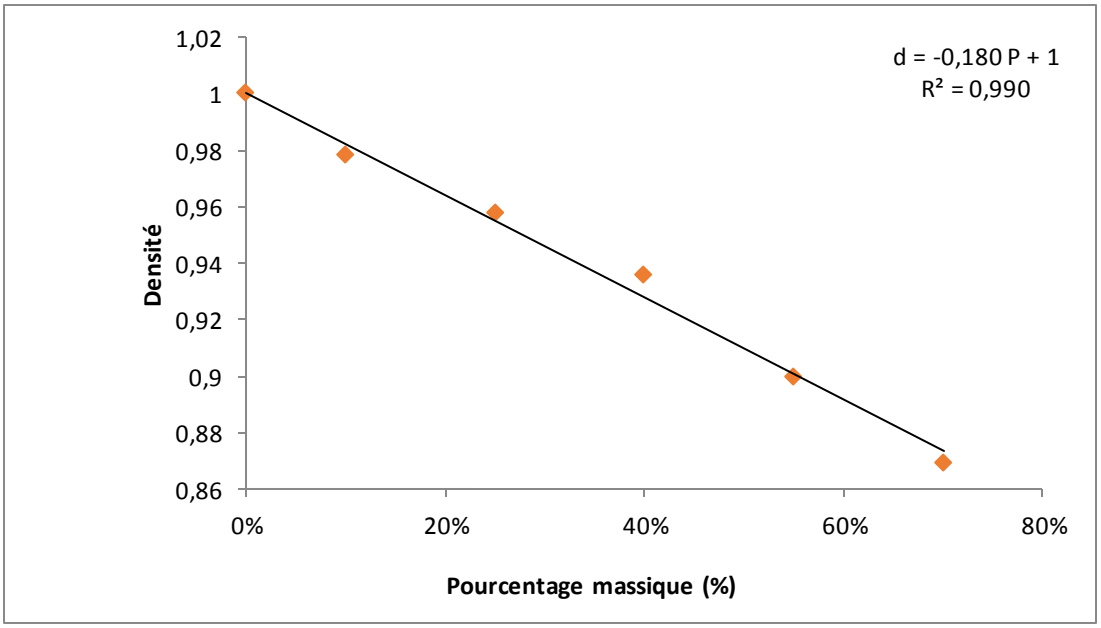


Figure II-29 : Courbe d'étalonnage destinée au dosage de l'éthanol par mesure de la densité en fonction de titre massique .