

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Djilali BOUNAAMA - KHEMIS MILIANA**



**Faculté des sciences de la nature et de la vie**  
**Département de biologie**  
**Filière d'Ecologie et Environnement**  
**Spécialité : Protection des Ecosystèmes**

**Mémoire**

*Présenté dans le cadre de l'obtention du diplôme de Master en Protection des Ecosystèmes*

**Thème**

**Utilisation d'une ressource végétale pour la production du bioéthanol : cas de la betterave**

**Présenté par :**

- **Hadroug Fatima**

**Jury d'évaluation:**

**Mr. Amrani Rachid MAA** **Présidente**

**Mr. YahiaouiBrahim MCB** **Examination**

**Mme BAUCHE Fatima Zohra MCB** **Promotrice**

**2019/2020**

## ***Dédicace***

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie cette mémoire

A mes très chers parents Allal et Oum EL Kheir autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous. Vous n'allez combler avec votre tendresse et affection tout au long de mon parcours. Vous n'allez cesser de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, vous allez toujours présents à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi et pour vous reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour. Que dieu me les garde.

A mes sœurs et mes frères pour leurs disponibilité, leurs soutien, leurs encouragement incessant.

A Mon cher marie Abed El Kader d'être toujours à mes côtés pour me soutenir, pour m'aider dans la mesure du possible, mais surtout pour donner du goût à ma vie par son amour et sa tendresse, j'espère qu'il trouve ici le témoignage de mon profond amour, attachement et respect.

A mon fils Iyad.

A ma belle-famille pour leur soutien, gentillesse et sympathie.

A Tous ceux que j'aime.

# ***Remerciement***

**Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la foi et de m'avoir permis d'en arriver là.**

**Je tiens à remercier Mme BAOUCHE Fatima Zohra pour son encadrement et son soutien. Mes remerciements vont aux membres de jury d'avoir honoré de juger ce modeste travail. En l'occurrence Mr Amrani Rachid, Mr Yahyaoui Brahim pour avoir accepté d'examiner le présent manuscrit.**

**J'exprime ma reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué de près ou loin à ce travail.**

## **LISTE DES TABLEAUX**

### **Chapitre I :**

**Tableau I.1 :** Composition de la Betterave à sucre (en g/100g de betterave).

**Tableau I.2 :** Propriétés physico-chimiques de l'éthanol.

**Tableau I.3 :** La production mondiale de bioéthanol par matière première utilisée.

**Tableau I.4 :** Composition moyenne du blé tendre en pourcentage sur matière totale.

**Tableau I.5 :** Les trois générations de bioéthanol.

### **Chapitre II :**

**Tableau II.1 :** Propriétés physico-chimiques de l'éthanol.

**Tableau II.2 :** Pays africains producteurs de bioéthanol en Afrique.

**Tableau II.3 :** Avantages et inconvénients du bioéthanol.

### **Chapitre III :**

**Tableau III.1 :** Avantages et inconvénients des différentes ressources de biomasse.

**Tableau III.2 :** Différents procédés de prétraitement de la biomasse.

**Tableau III.3 :** les éléments nutritifs consommé par le (*saccharomyce cerevisiae*) lors de sont métabolisme fermentaire.

### **Chapitre IV :**

**Tableau IV.1 :** Matériels et appareils utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol.

**Tableau IV.2 :** Conditions de croissance de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

**Tableau IV.3 :** Caractéristiques physicochimiques des jus de betterave avant fermentation.

**Tableau IV.4 :** Détermination des paramètres de croissance de *S. cerevisiae* pour les Différents valeurs.

**Tableau IV.5 :** Caractéristiques physicochimiques et biochimiques des produits de fermentation en présence des jus de betteraves.

**Tableau IV.6 :** Caractérisation du bioéthanol obtenu par distillation du jus de betterave.

**Tableau IV.7 :** Réactifs chimique et Matériels utilisés par [8] pour l'élaboration du procédé de production.

## **LISTES DES FIGURES**

### **Chapitre I :**

**Figure I.1 :** Etapes du cycle végétatif de la betterave.

**Figure I.2:** Production et utilisation du bioéthanol.

**Figure I.3 :** Procédé de production de bioéthanol.

**Figure I.4:** Schéma de transformation des céréales en éthanol par voie "dry milling".

**Figure I.6:** Schéma de transformation des céréales en éthanol par la voie "wetmilling".

### **Chapitre II :**

**Figure II.1:** Le bioéthanol de la production à l'utilisation.

**Figure II.2 :** Schéma de production de bioéthanol à partir de betteraves sucrières.

**Figure II.3 :** Distribution de la production mondiale de bioéthanol (2006).

**Figure II.4 :** Procédé de production de bioéthanol.

**Figure II.5 :** Schéma de transformation des céréales en éthanol par voie "dry milling".

**Figure II.6 :** Domaines d'utilisation du bioéthanol.

### **Chapitre III :**

**Figure III.1 :** La structure morphologique et les constituants de la levure type (*saccharomyces cerevisiae*).

**Figure III.2 :** Les phases de la croissance bactérienne en mode discontinu.

**Figure III.3 :** Technique de fermentation et hydrolyse séparées pour la biomasse Lignocellulosique.

**Figure III.4 :** Saccharification et fermentation simultanées (SFS).

**Figure III.5 :** Schéma du procédé de distillation-rectification d'un jus fermenté.

### **Chapitre IV :**

**Figure IV.1 :** Matière première utilisée par [ ??], pour la production du bioéthanol.

**Figure IV.2 :** Montage expérimental pour l'extraction du jus de betterave.

**Figure IV.3 :** Dispositif expérimental utilisé pour la fermentation alcoolique.

**Figure IV.4 :** Courbes de croissance de *S. cerevisiae* pour les jus de betterave à différentes valeurs de Brix.

**Figure IV.5 :** Modélisation de la phase de croissance exponentielle pour *S. cerevisiae*- Détermination des vitesses de croissance maximale pour les différentes valeurs.

**Figure IV.6 :** Etapes de la fermentation.

**Figure IV.7 :** Découpe la betterave en cossettes.

**Figure IV.8 :** Broyer les cossettes.

**Figure IV.9 :** Bouchon muni d'un tuyau à dégagement.

**Figure IV.10 :** Identification du rejet de CO<sub>2</sub>.

**Figure IV.11 :** Plaque chauffante pour chauffer nos tubes.

**Figure. IV.12 :** Ajouter réactif de permanganate de potassium.

**Figure IV.13 :** Résultat après manipulation.

**Figure IV.14 :** Un montage de distillation fractionnée.

**Figure IV.15 :** Flamme obtenu par [8] après la combustion du bioéthanol.

**Figure IV.16 :** Schéma du système de barbotage pour le chaulage + schéma de filtration avec Bücher.

**Figure IV.17 :** (a) : Filtration sur Büchner du jus de betterave après chaulage ; (b) : A gauche, jus de betterave après chaulage: les impuretés forment un précipité. A droite: solution après filtration.

**Figure IV.18 :** (a) Solution de betterave et de liqueur de Fehling au bain-marie en début de réaction. (b) : Solution de betterave et de liqueur de Fehling au bain-marie en fin de réaction.

**Figure IV.20 :** Graphique représentant la quantité de dioxygène, de dioxyde de carbone et d'éthanol avant, pendant et après l'ajout de glucose dans une solution de levures en suspension.

**Figure IV.21 :** (a) Total de production de jus sucré de betterave avec levures ; (b) Jus sucré de betteraves et levures mélangées.

**Figure IV.22 :** (a) : Extraction de l'éthanol du jus de betterave fermenté. (b) : Les vapeurs à 79°C sont les vapeurs d'éthanol à récupérer.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**Abs** : Absorbance

**ADN** : Acide Désoxyribo Nucléique

**ATP** : Adénosine TriPhosphate

**BLC** : Biomasse LignoCellulosique

**CE** : Conseil Européen

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de Carbone

**Conc** : Concentration

**DO** : Densité Optique

**E85** : Mélange d'essence et d'éthanol pur dans des proportions comprises entre 0 % et 85 % en volume d'éthanol

**ETBE**: Ethyle Tertio Butyle Ether

**EU**: Union Européenne

**FAO**: Food and Agriculture Organization of the United Nation

**HMF** : Hydroxy-Méthyl Furfural

**HPLC** : Haute Performance Chromatographie en phase Liquide

**MS** : Matière Sèche

**NAD<sup>+</sup>** : Nicotinamide Adénine Di nucléotide, forme oxydée

**NADH** : Nicotinamide Adénine Di nucléotide, forme réduite

**OCDE** : Organisation de Coopération et de Développement Économiques

**SC** : Saccharomyces Cerevisiae

**SFS** : Saccharification et Fermentation Simultanée

**SHF** : Fermentation et Hydrolyse Séparées

**CDER** : Centre De Développement Des Energies Renouvelables.

**SP 95** : SP : Carburant Sans Plomb.

**IEB** : Inter-Environnement Bruxelles.

**L'OCDE** : L'Organisation De Coopération Et De Développement Économiques

opération Et De Développement Economique.

**L'ENCPB** : L'Ecole National De Chémie Physique Et Biologique.

**CFR** : Coopérative fuel recherche.

**TPE** : Terminal De Paiement Electronique.

**CaCO<sub>3</sub>** :Carbonat De Calissium qui cristallise naturellement en trois polymorphes.

**MnO<sub>4</sub><sup>-</sup>** : Le Permanganate

**CH<sub>4</sub>OH** : Le Méthane.

## Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

### Chapitre I :

I.1 introduction.....	5
I.2 Caractéristique générale de la plante.....	5
I.2.1 Description.....	5
I.2.3 cycle de reproduction.....	7
I.2.4 Procès sucrier.....	7
I.2.5 Autres débouchés.....	8
I.2.6 Croissance et développement.....	9
I.3 Cas du Bioéthanol Carburant.....	10
I.3.2 Définition du bioéthanol.....	11
I.3.3 Générations de bioéthanol.....	13
I.4 Conclusion.....	20

### Chapitre II :

II.1 Introduction.....	21
II.2 Projets de production de bioéthanol.....	22
II.2.1. Projets de production de bioéthanol à l'échelle mondiale.....	24
II.2.2. Projets de production de bioéthanol à l'échelle continentale.....	26
II.2.3. Projets de production de bioéthanol à l'échelle nationale.....	26
II.3. Différents générations de bioéthanol.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.1. Bioéthanol de la première génération.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2. Bioéthanol de deuxième génération.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
A. Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus agricoles	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
B. Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus forestiers	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
C. Le bioéthanol de deuxième génération partir de plantes saccharifères	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
D. Le bioéthanol de deuxième génération à partir de plantes amylacées	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
E. Le bioéthanol de la deuxième génération à partir de biomasse lignocellulosique	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.3. Bioéthanol de troisième génération.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.4. Comparaison entre les trois générations.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.4 Avantages et inconvénients du bioéthanol.....	27
II.5 Domaines d'utilisation du bioéthanol.....	28
II.6 Conclusion.....	29

### Chapitre III :

III.1. Introduction.....	42
III.2. Energie de biomasse et voies de production.....	42
III.2.1. Définition de la biomasse.....	42
III.2.2. Définition de la biomasse végétale.....	43

III.2.3. Composition de la biomasse .....	43
III.2.4 Ressources de biomasse.....	44
III.2.5. Avantages et inconvénients de la biomasse.....	44
III.2.6. Prétraitement de biomasse .....	44
III.3. Production du bioéthanol .....	45
III.3.1. Hydrolyse.....	45
A. L'hydrolyse chimique.....	46
III.3.2. la fermentation alcoolique .....	46
III.4. Les caractéristiques de la levure boulangère type « <i>saccharomyces cerevisiae</i> ».....	48
III.4.1. Définition de la levure boulangère type ( <i>saccharomyces cerevisiae</i> ) .....	48
III.4.2. Rôle de la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	48
III.4.3. Morphologie et Structure.....	48
III.4.5. Croissance microbienne.....	50
III.4.6. Conditions de culture.....	51
III.4.7. Le métabolisme fermentaire des ( <i>saccharomyces cerevisiae</i> ) .....	52
III.4.8. Influence des paramètres environnementaux sur le métabolisme de la levure .....	53
III.4.8.1 Influence du pH .....	53
III.4.8.2 Influence de la température .....	53
III.4.8.3. Influence de l'éthanol .....	53
III.4.8.4. Influence de l'oxygène .....	54
III.4.8.5. Influence du substrat :.....	54
III.5. Récupération et purification des produits de fermentation .....	54
III.5.1. Récupération du bioéthanol (distillation) .....	54
III.5.2. Purification du bioéthanol .....	55
III.6. Techniques de fermentation alcoolique.....	55
III.6.1. Fermentation et hydrolyse séparées.....	55
III.6.2. La saccharification et fermentation simultanée (SFS).....	56
III.6.3. Distillation du mélange eau-éthanol (purification).....	57
III.6.4. Obtention de biomolécules à grande valeur ajoutée.....	58

## **Chapitre I V:**

IV.1. Introduction.....	49
IV.2. Protocoles d'extraction de bioéthanol issu de la betterave .....	49
IV.2.1. Protocole appliqué dans le premier travail [ 44] .....	49
A. Prétraitement de la betterave sucrière .....	50
B. Procédé de fermentation éthanolique .....	53
C. Protocole de la fermentation alcoolique.....	53
D. Distillation du mélange pour récupération du bioéthanol.....	54
E. Caractérisation physicochimique des jus de betteraves avant fermentation .....	54
F. Fermentation alcoolique .....	55
G. Caractérisation physicochimique et biochimique des produits de fermentation.....	58
IV.3. Protocole d'extraction du bioéthanol de betterave réalisé par [59-60] .....	60
IV.3.1. Essais N° 1 réalisé par [59] .....	60

A. L'extraction du sucre.....	60
B. Mesure de la teneur en sucre .....	60
C. Fermentation alcoolique .....	60
IV.3.2 Essais N° 2 réalisé par [60] .....	62
A .Obtention d'un moût sucrée issu de la betterave sucrière .....	62
B. Fermentation alcoolique .....	63
C. Identification de l'éthanol .....	66
D. Purification.....	67
E. propriété d'éthanol obtenu.....	68
IV.4. Protocole d'extraction du bioéthanol de betterave utilisé par [61] .....	69
IV.4.1 Extraction du sucre présent dans une betterave sucrière.....	69
IV.4.2. Purification du jus de betterave obtenu .....	70
A. Mise en évidence de la présence de sucre .....	72
B. Mise en évidence de la fermentation.....	73
C. Fermentation du jus sucré .....	74
D. Distillation de l'alcool .....	75
IV.4. Conclusion .....	76
Conclusion générale et perspectives.....	68
Références bibliographiques .....	69

## **Résumé**

L'éthanol est un composé à usages très variés allant de la chimie à l'agroalimentaire. Cependant, la croissance actuelle du marché se fait essentiellement autour de l'utilisation de l'éthanol en tant que carburant. Afin de diminuer les consommations en énergie et en eau pour la production d'éthanol, l'objectif de ce projet de fin d'étude est d'accélérer la production du bioéthanol à partir de sirop basse pureté, produit de la seconde cristallisation des jus d'extraction de betterave Algérien. Pour ce faire, il faut penser à la fermentation à haute densité afin d'obtenir du Bioéthanol à teneur plus élevée.

Après une étude comparative, on peut résumer notre stratégie de recherche en trois points. Le premier point a consisté en la recherche d'une composition de milieu de fermentation permettant d'augmenter la concentration finale en éthanol. Le second point a eu pour but de déterminer si les besoins en nutriments se limitaient uniquement à la phase de croissance ou au contraire si l'apport de ces nutriments était bénéfique tout au long de la fermentation. Le dernier point montre qu'il est possible de réaliser des fermentations haute densité à partir de sirop basse pureté et d'économiser par litre d'éthanol pur, l'énergie pour la distillation, et de l'eau pour la réalisation des milieux de fermentation et de diminuer le volume de déchet produit après distillation.

**Mots-clés:** Bioéthanol, betterave sucrière, sirop basse pureté, Fermentation haute densité, *Saccharomyces cerevisiae*.

## **Abstract**

Ethanol is a compound with a wide variety of uses ranging from chemistry to the food industry. However, most of the current market growth is around the use of ethanol as a fuel.

In order to reduce energy and water consumption for the production of ethanol, the objective of this end-of-study project is to accelerate the production of bioethanol from the low purity syrup, the product of the second crystallization of Algerian beet extract juice. To do this, we must think of high density fermentation in order to obtain bioethanol with a higher content.

After our comparative study, we can summarize the research strategy in three points. The first point consisted in finding a fermentation medium composition that would increase the final ethanol concentration. The second point was to determine whether the nutrient requirements were limited only to the growth phase or, on the contrary, whether the supply of these nutrients was beneficial throughout the fermentation. The last point shows that it is possible to carry out high density fermentations from low purity syrup and to save per liter of pure ethanol, energy for distillation, and water for the production of fermentation media. And to reduce the volume of waste produced after distillation.

**Keywords:** Ethanol, Sugar beet, Low purity syrup, High gravity fermentation, *Saccharomyces*.

### INTRODUCTION GENERALE

En 1600 l'agronome français 'Olivier de Serres' s'aperçut qu'il était possible de produire une substance sucrée en cuisant le jus issu de certaines variétés de betterave. Un siècle et demi plus tard, en 1747, le chimiste prussien 'Andreas Margraaf', découvrit que la betterave contenait effectivement du saccharose à l'instar de la canne à sucre qui était à l'époque la seule source de saccharose [1]. Le 21 Novembre 1806, après la défaite des anglais à Trafalgar, Napoléon 1er instaura le blocus continental, ce qui interdisait aux bateaux anglais l'accès des ports européens et donc limitait fortement l'importation du sucre de canne provenant des colonies. Seulement deux années auront été nécessaires aux scientifiques français pour présenter à l'empereur deux pains de sucre de betterave.

C'est juste en ce moment que la betterave a réellement connu son essor agronomique grâce aux affiliations de terre pour la culture de la betterave et aux subventions pour la construction de sucreries. Si le sucre de canne réapparut en quantité en Europe à la fin du blocus continental, la production de sucre de betterave perdura grâce à des progrès agronomiques et techniques lui permettant d'être rentable. La production de sucre à partir de canne ou de betterave génère un sous-produit appelé mélasse. Ce sous-produit contient encore du sucre mais son extraction est difficile et onéreuse. [1]

A partir du 16<sup>ème</sup> siècle la mélasse de canne à sucre servit à produire de l'alcool par fermentation ce qui aboutit à la production de rhum. Cependant, l'alcool obtenu après fermentation et distillation de la mélasse de betterave s'étant révélé impropre à la consommation (mauvais goût), la valorisation de ce sous-produit a été orientée vers l'éthanol pur et l'alimentation animale.

Suite à la forte industrialisation de l'agriculture opérée dans la seconde moitié du 20ème siècle, la production de sucre est devenue excédentaire par rapport à la demande. Ceci a entraîné des fluctuations du cours de sucre et des quotas ont donc été instaurés. C'est alors

## Introduction générale

---

que des intermédiaires de la chaîne de production ont commencé à être fermentés. Aujourd'hui, la production d'éthanol à partir de jus vert (jus d'extraction) ou de sirops (jus vert clarifié et concentré par évaporation) est couramment réalisée ce qui permet de stabiliser les revenus des ateliers de production en fonction à la fois du cours du sucre mais aussi celui de l'éthanol.[1]

A présent, l'éthanol n'est plus le coproduit de la production de sucre mais un produit à part entière. En effet, suite à l'augmentation du prix du pétrole, la déplétion de ces réserves, des problèmes de sécurisation de ses importations et ses effets notoires sur l'environnement, l'éthanol devient de jour en jour plus intéressant, non plus pour la consommation en tant qu'alcool de bouche mais pour son utilisation en tant que carburant renouvelable et propre.

La production d'éthanol par la levure *Saccharomyces cerevisiae* à partir de substrat betteravier est bien connue. Les chercheurs ont fait des efforts pour une amélioration de l'étape de fermentation afin de diminuer les coûts de production. Parce que les fortes concentrations en sucre entraînent souvent des fermentations languissantes ou incomplètes, liées au stress osmotique, à la toxicité de l'éthanol, ou à des carences nutritionnelles. Donc, l'ajout de nutriments (azote, phosphore, ions métalliques,...) ou de facteurs osmoprotectants (ajout d'acides gras, micro-aération,...) sont des paramètres qui peuvent permettre d'améliorer les performances des fermentations à haute densité. [1].

Notre projet est une étude scientifique sur l'utilisation de betteraves Algériennes pour la production du bioéthanol. Dans ce cadre, nous avons commencé notre travail par une recherche bibliographique très précise pour découvrir les différentes méthodes de production qui permettent la fermentation à haute densité pour obtenir des concentrations finales en éthanol supérieures à 15% (v/v), contrairement aux fermentations classiquement mises en œuvre à l'échelle industrielle qui se varient entre 10 et 12 % (v/v). Notre but s'agit-il d'étudier

## Introduction générale

---

les méthodes de gestion des déchets agricoles tels que les mauvaises betteraves, car ils sont riches en saccharose.

Après avoir commencé notre projet le mois de Février, nous avons visité le centre de développement des énergies renouvelables « CDER- Bouzerea-Alger » pour apprendre le protocole suivi dans la production du bioéthanol pour puisse commencer la partie expérimentale aux laboratoires de biochimie et de microbiologie au niveau de notre université « Université Djilali Bounaama-Khemis Miliana ». Par la suite, nous avons commencé les essais de préparation de la levure nécessaire dans la fermentation, mais malheureusement avec la pandémie « COVID-19 » nous avons été obligé d'arrêter les essais après fermetures des universités à l'échelle national.

Suite aux dernières décisions ministérielles enrichis par les avis des organes scientifique de la faculté le projet deviendrai sous forme d'une étude théorique et comparative. Dans ce sens, notre manuscrit est divisé en trois chapitres, le premier est consacré à expliquer ce que nous avons appris de notre étude bibliographique relative à la betterave. Dans le deuxième chapitre, nous avons expliqué les techniques utilisés pour la production du bioéthanol. Le troisième chapitre se rapporte une étude comparative entre les résultats de recherche obtenus par les chercheurs universitaires dans ce domaine. Notre mémoire est terminé par une conclusion générale.

---

## **CHAPITRE I :**

# **Généralités sur les intérêts de betteraves dans la production de bioéthanol.**

---

# **CHAPITRE I : Généralités sur les intérêts de betteraves dans la production de bioéthanol.**

## **I.1 introduction**

L'histoire de la betterave à sucre a commencé en 1747, quand le chimiste allemand 'Marggraf' découvrit que la substance sucrée des betteraves était du saccharose, dont on pensait jusqu'alors qu'il n'existait que dans la canne à sucre. A la fin du XVIIIe siècle, son élève 'Achard' commença l'étude de la culture de la betterave à sucre et de la fabrication du sucre de betterave. En 1801, il construisit une usine en Silésie et se mit à sélectionner des types de betteraves propres à la production de sucre. La betterave blanche de Silésie fut le fruit de ses travaux. Plus tard, d'autres chercheurs s'efforcèrent d'améliorer le matériel de betteraves. 'Louis de Vilmorin' entreprit un travail de sélection fondé sur la betterave de Silésie, et, en 1837, il introduisit le test de la descendance comme méthode de sélection. Par suite de ses travaux, et après l'introduction de la mesure densimétrique en 1850 et du polarimètre en 1862, la teneur en sucre augmenta. Elle passa de 7 à 9 pour cent en 1830 et de 11 à 13 pour cent dans la variété dite «Betaimperialis », considérée comme la première véritable betterave à sucre, créée par le sélectionneur allemand 'Knaur' en 1854. Tandis que certains chercheurs pensent que «Beta imperialis » provient de croisements spontanés entre la «betterave de Silésie » 'd'Achard' et des formes de betterave sauvage « Beta maritima », d'autres pensent que la betterave à sucre est le résultat d'une sélection répétée dans les populations de «betterave de Silésie », considérée elle-même comme issue de croisements naturels entre divers types de betteraves cultivées pour leurs feuilles ou leurs racines. [2]

## **I.2 Caractéristique générale de la plante**

### **I.2.1 Description**

La betterave (ou Beta vulgaris) est une plante dicotylédone qui appartient à la famille des « **Chénopodiacées** ». C'est une plante qui présente une reproduction par semis et le

rendement betteravier se situe entre 60 et 100 tonnes à l'hectare (96,7 en 2011-2012). [3] Il existe de nombreuses variétés de betteraves sauvages ou cultivées. La betterave sucrière, à chair blanche, présente une racine de forme conique, presque entièrement enfouie dans le sol, dotée d'un collet plat et surmontée d'un bouquet foliaire. La racine, parcourue de deux sillons saccharifères, principale réserve de sucre, contient de 14 à 21 % de son poids en sucre. [3]

### I.2.2 Composition

La betterave présente une teneur en eau d'environ 75 %. Les 25 % de matières sèches se découpent ainsi :

➤ Pulpe ou marc (5%) : cette fraction insoluble dans l'eau est constituée en majorité de cellulose, d'hémicellulose, de lignines et de pectines. Elle trouve son utilisation en alimentation animale.

➤ Sucre (17 %)

➤ Non sucre (3 %) : Cette fraction est constituée de matières azotées (protéines, acides aminés et notamment bêtaïne), de sels minéraux (potassium, sodium, calcium, magnésium), de sucres autres que le saccharose (glucose, fructose, raffinose (caractéristique de la betterave), et d'acides organiques (citrate, oxalate). [3]

**Tableau I.1** : Composition de la Betterave à sucre (en g/100g de betterave). [4]

<b>Eau</b>	<b>73-76.5</b>	<b>Composés organiques non-azotés</b>	<b>0,9-1,1</b>
<b>Matière sache</b>	<b>23.5-27</b>	<b>Glucose, Fructose</b>	<b>0,1-0,2</b>
<b>Saccharose</b>	<b>14-21</b>	<b>Raffinose</b>	<b>0,05-0,1</b>
<b>Autres constitution</b>	<b>7.0-9.5</b>	<b>Pectine</b>	<b>0,1-0,3</b>
<b>Détail des autres constituants :</b>		<b>Acides organiques</b>	<b>0,2-0,3</b>
<b>Composés insolubles (marc)</b>	<b>4,5-5,0</b>	<b>Lipides</b>	<b>0,05</b>
<b>Cellulose</b>	<b>0,9-1,2</b>	<b>Saponines</b>	<b>0,1</b>
<b>Hemicelluloses</b>	<b>1,1-1,5</b>	<b>Autres</b>	<b>0,1</b>
<b>Pectine</b>	<b>0,9-2,4</b>		
<b>Lignine</b>	<b>0,1-0,3</b>		
<b>Protéines</b>	<b>0,1-0,4</b>		
<b>Saponines</b>	<b>0,05-0,1</b>		
<b>Lipides</b>	<b>0,05-0,1</b>		
<b>Cendres</b>	<b>0,1</b>		
<b>Composés solubles :</b>	<b>2,5</b>		

---

### I.2.3 cycle de reproduction

La betterave sucrière est une plante bisannuelle, son cycle de reproduction s'établit sur deux années. La première année (ou phase végétative) est dédiée à l'accumulation des réserves de sucre dans la racine. La deuxième année (ou phase de reproduction) utilise l'énergie stockée pour former une inflorescence, puis des graines, après pollinisation croisée entre betteraves. La culture de betterave exige des terres bien préparées, avec une préférence pour les sols argilo-calcaires et légèrement alcalins, ainsi qu'un climat tempéré, assez humide d'avril à septembre, avec des périodes ensoleillées et sèches juste avant la récolte. [5]

### I.2.4 Procès sucrier

**Neuf étapes** sont nécessaires depuis **la récolte** des betteraves jusqu'à l'obtention du sucre de betterave. La sucrerie est approvisionnée en betteraves par les cultures implantées dans un Rayon d'environ 30 km. Le poids net des racines livrées (hors terre et pierres) et leur teneur en sucre sont évalués par prélèvement lors de la livraison. Le temps de stockage des betteraves est réduit au strict minimum afin de conserver leur richesse en sucre. [6]

Pendant **le lavage**, les betteraves sont brassées dans un lavoir où elles circulent à contrecourant d'un flux d'eau propre pour les séparer de la terre, de l'herbe et des pierres.

**Le découpage** est l'étape durant laquelle les betteraves propres sont envoyées dans des coupe-racines qui les débitent en fines lamelles appelées « cossettes ».

Le jus sucré est extrait des cossettes par diffusion. Cette opération, basée sur le principe de l'osmose, a pour but de faire passer le sucre contenu dans les cossettes dans de l'eau. La diffusion est réalisée dans un long cylindre : les cossettes y pénètrent par une extrémité, et l'eau tiède qui y circule lentement en sens inverse s'enrichit peu à peu de leur sucre. Le jus sucré est recueilli à une extrémité, tandis que les cossettes épuisées, appelées « pulpes », sont récupérées à l'autre bout. [6]

---

Le jus obtenu contient la quasi-totalité du sucre présent dans la betterave, mais également d'autres composés qu'il faut éliminer (sels minéraux, composés organiques...). L'opération s'appelle l'épuration calco-carbonique : une adjonction successive de lait de chaux (à base de pierres calcaires) puis de gaz carbonique permet de fixer et rendre insoluble ces composés, puis de s'en séparer par filtration. On obtient un jus sucré clair. A ce stade, le jus filtré contient environ 15 % et 85 % d'eau, dont une grande partie sera éliminée par **évaporation**. Porté à ébullition dans des tuyaux en contact avec de la vapeur, le jus traverse une série de chaudières (les « évaporateurs ») où la température et la pression diminuent progressivement de l'une à l'autre. A terme du circuit, le jus s'est transformé en sirop contenant 65 à 70 % de saccharose. Le sirop achève sa concentration dans des chaudières à cuire travaillant sous vide pour éviter la caramélisation. On y introduit de très fins cristaux (sucre glace) qui vontensemencer le sirop. La cristallisation se généralise et l'on obtient la « masse cuite », formée de multiples petits cristaux en suspension dans un sirop coloré par les impuretés résiduelles. La masse cuite est envoyée dans des turbines, ouessoreuses. Sous l'action de la force centrifuge, le sirop est évacué tandis que le sucre blanc cristallisé se dépose sur les parois du panier, tout en étant « lavé » en surface par un jet de vapeur d'eau : c'est l'**essorage**. Encore chaud et humide, le sucre cristallisé blanc est envoyé dans des appareils de **séchage** air chaud, puis refroidi. Il est désormais prêt à la consommation. [6]

### **I.2.5 Autres débouchés**

Les betteraves, une fois épuisées en sucre par diffusion dans l'eau chaude, prennent le nom de **pulpes**, utilisées en alimentation animale. Riches en vitamines, protéines et minéraux, elles contiennent également du sucre résiduel. Cette composition en fait un aliment de choix pour les animaux, notamment pour les ruminants qui les consomment fraîches ou déshydratées. Co-produit du processus sucrier, **les écumes** sont recueillies lors de la

---

purification du jus de la betterave par précipitation des impuretés. Riches en sels minéraux et particulièrement en calcium, elles sont valorisées en agriculture comme engrais organique.

Dans une sucrerie de betterave, le produit final non cristallisé, visqueux et très coloré, est la **mélasse**. On l'utilise comme support de fermentation pour la production d'alcool, de levures ou de micronutriments ainsi que dans les aliments composés pour les animaux. La production d'**alcool** comme biocarburant s'est développée depuis quelques années. [7]

### **I.2.6 Croissance et développement**

A la différence de cultures à graines, où les cycles sont rythmés par des états morphologiques (levée, début montaison, floraison, maturité), il n'y a pas de stades morphologiques bien nets pour la betterave sucrière.

Les premières tentatives de description distinguaient trois périodes dans le cycle de la plante (Figure 1) :

- la **période juvénile**, de la germination au stade "16 feuilles",
- la **période d'adolescence**, du stade "16 feuilles" au stade "40 feuilles",
- la **période de maturation** ou de reproduction sexuée

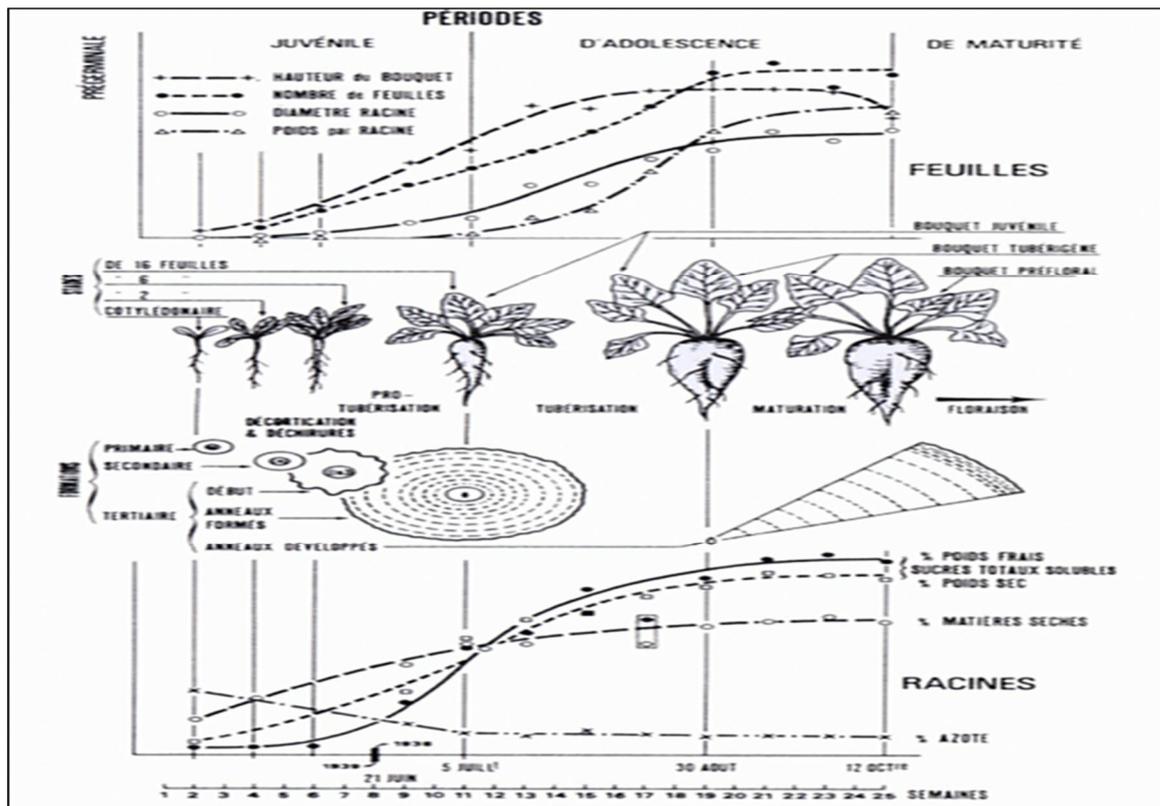


Figure I.1 : Etapes du cycle végétatif de la betterave [8]

### I.3 Cas du Bioéthanol Carburant

Le monde a connu actuellement une diminution de ses ressources énergétiques principalement basées sur des énergies non renouvelables telles le pétrole. De plus ces ressources deviennent de plus en plus difficiles à exploiter et donc de moins en moins bon marché[9]. Face à la réduction des réserves et l'augmentation de l'effet de serre qui engendre un changement climatique, plusieurs pays pensent à des alternatives d'énergies, qui sont renouvelables à court terme, existent comme: l'éolien, la géothermie, le solaire, l'énergie marémotrice, la biomasse... Certains organismes vivants sont capables de capter l'énergie solaire et de la stocker, ce phénomène est appelé la photosynthèse. Ce sont eux qui, après des millions d'années d'enfouissement, sont à l'origine du pétrole stocké dans le manteau terrestre. Il n'est donc pas surprenant que les plantes cultivées aujourd'hui permettent de produire des carburants aux propriétés similaires : léger, liquide et concentré en énergie.

---

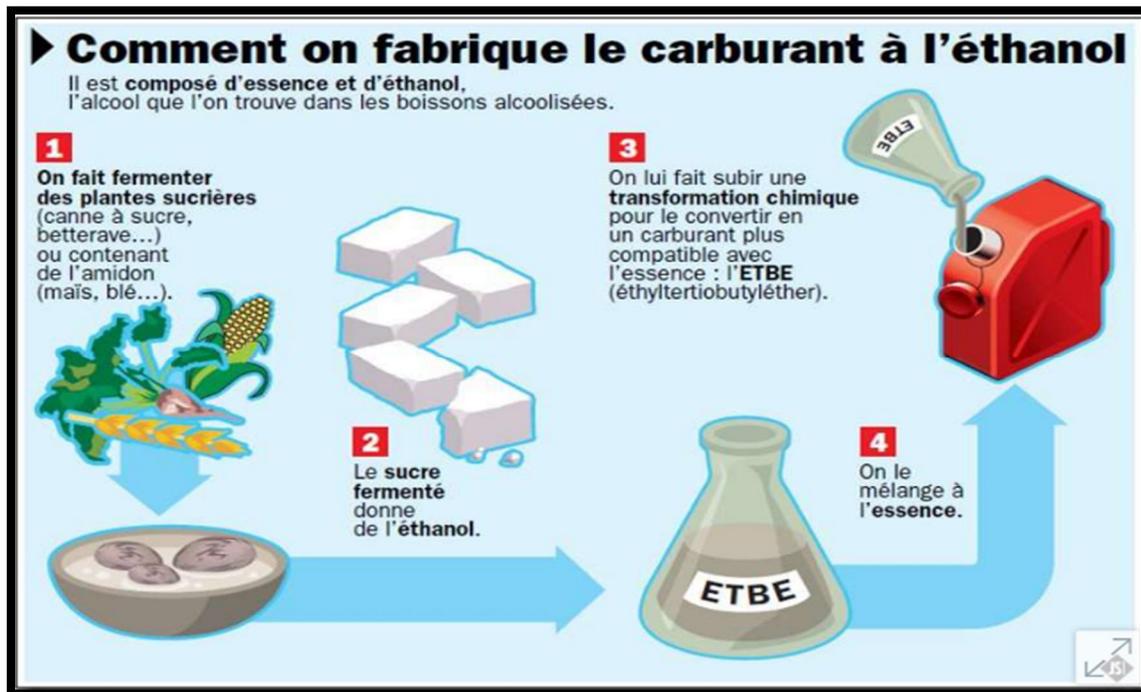
Les biocarburants, appelés aussi agro-carburants, sont des carburants issus de la biomasse destinés au moteur thermique pouvant se substituer partiellement ou totalement aux carburants pétroliers. C'est une ressource renouvelable considérée comme une alternative aux combustibles fossiles qui s'épuisent.

On distingue actuellement deux filières principales à partir des végétaux supérieurs terrestres :

- ✓ La filière biodiesel obtenue à partir d'huiles végétales (colza, palme, tournesol...), de déchets (huiles alimentaires usagées, graisses animales), comprenant à la fois les esters méthyliques (filière majoritaire) et huiles hydrogénées.
- ✓ La filière éthanol obtenue à partir de la fermentation de sucres de betterave ou de canne, de l'amidon de blé ou de maïs ou encore à partir de végétaux complets. [9]

### **I.3.1 Définition du bioéthanol**

Le bioéthanol est une sorte d'énergie d'origine biomasse considéré comme un carburant de rechange pour l'essence. La production traditionnelle de bioéthanol provient principalement de sucre. Cependant, cela entraîne une concurrence entre les sources d'énergie alimentaire et la biomasse. Par conséquent, les matériaux ligno-cellulosique sont progressivement considérés comme des ressources renouvelables plus attrayantes pour la production d'éthanol en raison de leur disponibilité et de leur coût relativement faible.



**Figure I.2:** Production et utilisation du bioéthanol. [10]

Le bioéthanol est produit par fermentation du sucre provenant des cultures sucrières (canne à sucre, betteraves, blé, dattes ...), ou provenant des cultures contenant de l'amidon (graines). La structure de l'amidon est une longue chaîne de polymère de glucose. Ce polymère ne peut pas être fermenté directement, la structure doit d'abord être cassée en des molécules de glucoses plus petites puis dissoute dans de l'eau. Ce mélange est ensuite chauffé et traité avec une enzyme. Cette enzyme permet d'hydrolyser l'amidon en chaîne courte de glucose et est appelée amylase (enzyme digestive). La fermentation transforme alors les sucres ou l'amidon en éthanol et en dioxyde de carbone grâce à des levures telles que « Saccharomyces ». En théorie 51% du glucose est convertie en éthanol, le reste est utilisé par la levure comme source d'énergie ce qui diminue l'efficacité de 40 à 48%. [10]

Le **Tableau I.2** donne quelques caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol.

**Tableau I.2.** Propriétés physico-chimiques de l'éthanol. [11]

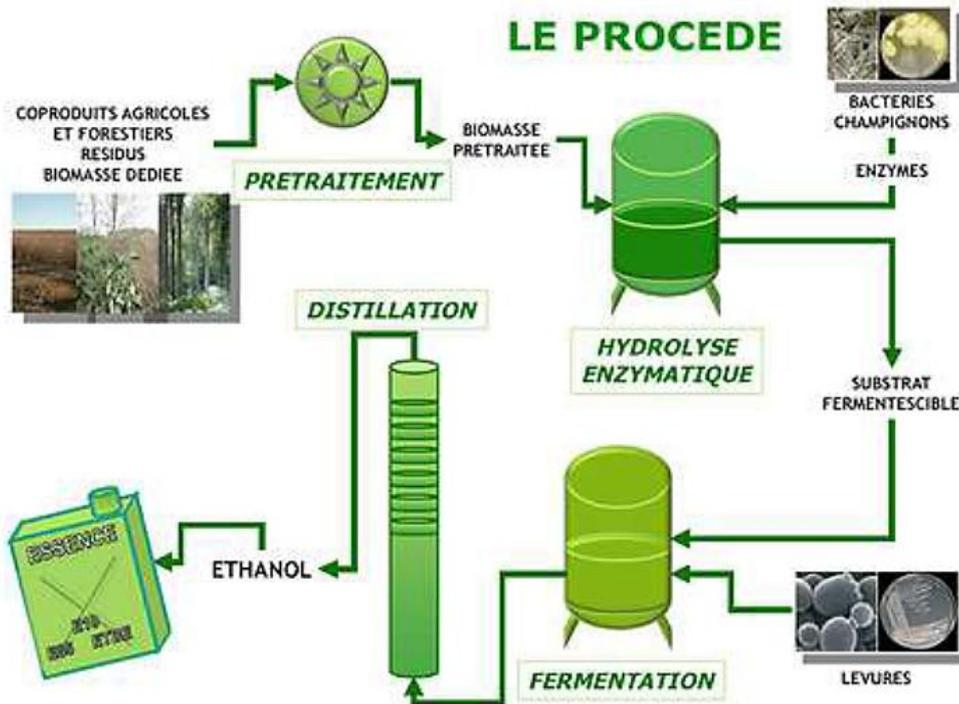
<b>Paramètre</b>	<b>Bioéthanol</b>	<b>Unité</b>
Formule	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	/
masse moléculaire	46,069	g/mol
Apparence	Liquide incolore	/
Densité	0,79	kg/litre
Indice d'octane (RON)	102-103	/
Indice d'octane (MON)	89-96	/
Chaleur latente de vaporisation	842-930	kJ/kg
Pression de vapeur	15-17	kPa
Température d'allumage	420	°C
Température de fusion	-144,4	°C
Température de vaporisation	78,4	°C
Point d'éclair	12,7	°C
Solubilité dans l'eau	100	% en volume

### I.3.2 Générations de bioéthanol

La production de bioéthanol à base de biomasse comme l'indique la **Figure I.3** est plus durable et largement distribuée. À l'heure actuelle, il existe trois générations de bioéthanol qui ont été fondées sur différentes matières premières. Le bioéthanol se répartie en plusieurs classes comme il est indiqué dans le **Tableau I.3**.

**Tableau I.3 :** La production mondiale de bioéthanol par matière première utilisée. [12]

<b>Matières premières</b>	<b>Production (Millions de litres)</b>	<b>Part en %</b>
Betterave sucrière	2	1,86
Canne à sucre	27	29,18
Blé	2	2,29
Mélasse	4	4,03
Céréales secondaires	47.07	51,28
Autre	7	8,06
Matières premières non agricoles	3	3,27



**Figure I.3 :** Procédé de production de bioéthanol. [13]

### **A. Le bioéthanol de première génération**

Le bioéthanol de première génération est obtenu par fermentation alcoolique de sucres fermentescibles (glucose, saccharose, etc.). [14] Ces sucres sont soit directement présents dans la plante (canne à sucre, betterave sucrière), soit obtenus après hydrolyse enzymatique de l'amidon contenu dans les grains de blé ou de maïs. [15]

Cependant, le principal inconvénient du bioéthanol de première génération est la menace de limitation de l'approvisionnement alimentaire qui peut affecter la population mondiale humaine car les matières premières sont dérivées de sources alimentaires. En outre l'utilisation des ressources alimentaires pour le carburant peut entraîner une augmentation des prix des denrées alimentaires. D'un autre côté, il est important de préciser que la première génération de bioéthanol est économiquement déraisonnable, car les teneurs en Carbone des plantes sont principalement perdues au cours du processus de conversion. [16] Les étapes de la

---

production d'éthanol provenant des cultures riches en sucre et amidon sont présentées dans la Figure 2

## **B. Le bioéthanol de deuxième génération**

La deuxième génération utilise toute la plante (paille, tiges, tronc) pour en extraire la lignocellulose, molécule contenue dans toutes les cellules végétales (notamment le bois d'arbres à croissance rapide et la paille) ; il serait alors possible d'exploiter la biomasse non alimentaire, voire ses déchets, dont la combustion fournirait par ailleurs de l'énergie pour l'extraction, avec peu d'émissions de gaz à effet de serre. Une fois extraite par hydrolyse enzymatique (par exemple à l'aide d'enzymes de champignons pouvant être fixés aux troncs des arbres), la cellulose est décomposée en sucres simples, similaires à ceux des céréales et de la betterave, pouvant être ensuite transformés en éthanol par fermentation. Il est à noter que ce procédé génère du CO<sub>2</sub>, qui peut néanmoins servir à nourrir des micros algues. Des pays du monde entier, comme la France, le Brésil, les États-Unis et le Canada, concentrent actuellement leurs efforts pour développer ces biocarburants de deuxième génération, très prometteurs pour l'avenir de la planète. Certains sont même rendus à la phase de production industrielle.

Enfin, on ne doit pas oublier que l'expansion industrielle du bioéthanol de deuxième génération a connu l'obstacle dû à certains problèmes technologiques. Il s'agit du coût élevé et du rendement moyen du bioéthanol en raison de sa composition de lignine. D'autres problèmes principaux liés à la production de bioéthanol de deuxième génération sont l'exigence de technologies et d'installations de pointe.

**B.1 Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus agricoles :** Les résidus de biomasse agricole est une source qui nécessite beaucoup d'énergie pour le prétraitement, ce qui fait que cette source soit onéreuse. De façon globale, les rendements des ressources agricoles sont en hausse; ceci encourage la perspective d'utiliser les résidus d'agriculture dans la production de bioéthanol de deuxième génération.

---

**B.2 Le bioéthanol de deuxième génération à partir de résidus forestiers :** La biomasse forestière représente une source d'énergie prometteuse permettant d'obtenir des combustibles solides (bûches, granulés), des combustibles liquides (bioéthanol et biodiésel) et des combustibles gazeux (biogaz). [17]

**B.3 Le bioéthanol de deuxième génération partir de plantes saccharifères :** Il s'agit de plantes très riches en sucre; cet ensemble peut être considéré comme un sous-groupe des résidus agricoles. La canne à sucre, avec son utilisation massive au Brésil, est la plus utilisée au niveau mondial pour la production de bioéthanol. En 2010, l'éthanol de canne à sucre représentait un tiers de la production d'éthanol au niveau mondial. Mais elle ne pousse qu'en milieu tropical. La betterave sucrière est beaucoup mieux adaptée à l'Europe et à son climat tempéré. Le sorgho sucrier provient d'Afrique, mais est adaptable au climat tempéré et présente l'avantage d'avoir des besoins réduits en eau pour se développer. [18]

Les jus sucrés comme les mélasses sont directement fermentescibles en éthanol, sans avoir à procéder à des opérations préalables de saccharification. Les pulpes de betteraves sont utilisées en alimentation animale, comme une bonne partie des vinasses. Les bagasses de canne à sucre sont avant tout une source d'énergie renouvelable auxquelles les vinasses concentrées peuvent être ajoutées. [19]

**B.4 Le bioéthanol de deuxième génération à partir de plantes amylacées :** Le maïs est la plante la plus utilisée pour la production d'éthanol aux Etats-Unis d'Amérique. [20] 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 étant 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 trempés dans l'eau et doivent donc être transformés rapidement après récolte.

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 de 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.[18]

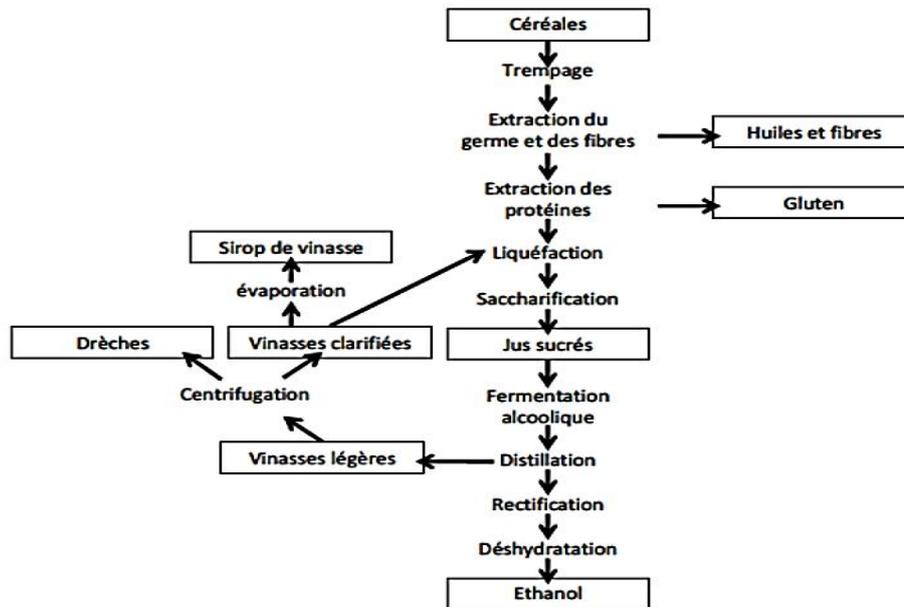
Il existe alors deux types de procédés, le premier est la voie sèche ou « dry milling » et le second est la voie humide ou « wet milling ». Le procédé « dry milling » permet l'obtention d'un jus à la composition très proche de celle du grain de blé. Le tableau I.4 représente que l'amidon est transformé en glucose. Ce procédé consiste en un prétraitement enzymatique permettant de dégrader l'amidon pour produire du glucose qui lui pourra être fermenté par la levure. Le procédé « wet milling » provoque des réactions secondaires dues à l'action de l'acide utilisé durant l'étape de trempage [21] De plus, durant ce procédé des composés de la plante sont extraits. La composition des jus sucrés utilisant le « wetmilling » est donc très variable.

**Tableau I.4 :** Composition moyenne du blé tendre en pourcentage sur matière totale[22]

<b>Blé tendre % m/m</b>	
<b>Humidité</b>	13,1
<b>Amidon</b>	62
<b>Protéine</b>	10,4
<b>Fibre</b>	0,2
<b>Cendres</b>	0,6

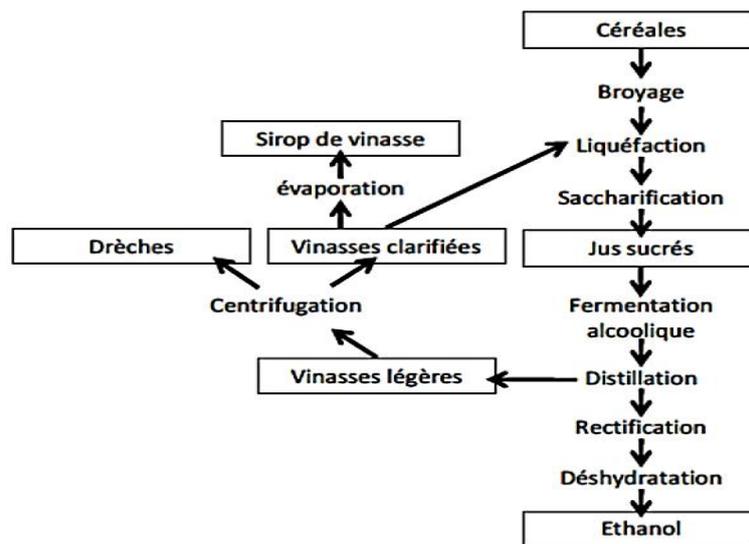
Dans le cas du « dry milling », illustré par la Figure 5, les grains sont nettoyés et broyés. L'amidon est hydrolysé en deux étapes par voie enzymatique. La première étape, réalisée à l'aide d'une  $\alpha$ -amylase est appelée liquéfaction. La seconde étape est appelée saccharification et utilise une amyloglucosidase. Ceci aboutit à la formation d'un sirop de glucose. Ce sirop

sera alors utilisé pour produire de l'éthanol par fermentation. Les drèches et les vinasses seront valorisés en alimentation animale. Les étapes de saccharification et de fermentation peuvent être associées afin de diminuer la durée du procédé. Ceci permet de libérer le glucose au rythme souhaité dans le milieu par la régulation de l'activité



**Figure I.4:** Schéma de transformation des céréales en éthanol par voie "dry milling".[9].

Pour ce qui est de la voie humide, ou « wetmilling », illustrée par la figure 6, les grains sont trempés dans une solution aqueuse contenant de l'acide sulfurique qui facilite la séparation des composants. Un broyage est ensuite réalisé afin de séparer les composants. Ceci permet de séparer l'amidon du reste de la plante et de générer de nombreux coproduits comme des huiles ou du gluten servant pour l'alimentation humaine ou animale. L'amidon ainsi obtenu est ensuite liquéfié et saccharifié par voie enzymatique.



**Figure I.6:** Schéma de transformation des céréales en éthanol par la voie "wet milling"[9].

### B.5 Le bioéthanol de la deuxième génération à partir de biomasse lignocellulosique :

L'éthanol peut aussi être produit à partir de matière lignocellulosique, comme le bois, la paille, les herbacées..... Contrairement à l'amidon ou au saccharose qui servent de réserves d'énergie pour la plante en vue d'une utilisation ultérieure, la matière lignocellulosique sert de structure pour les plantes. Il s'agit donc d'une matière stable et résistante aux agents extérieurs et donc plus difficile à dégrader. Elle est composée principalement de lignines qui sont des composés poly phénoliques inutilisables par la levure, de cellulose et d'hémicelluloses qui sont des composés poly osidiques. Comme pour l'amidon, la cellulose et les hémicelluloses doivent être hydrolysées avant utilisation par la levure car elle n'a pas le pool enzymatique nécessaire pour cela. Les procédés d'hydrolyse ressemblent à ceux employés pour l'amidon, ils emploient soit un traitement acide soit un traitement enzymatique. Le premier est certes peu cher mais il produit des inhibiteurs de fermentation et a un faible rendement d'hydrolyse. Le traitement enzymatique à l'inverse, est onéreux à cause du coût de l'enzyme mais il est performant et ne produit pas d'inhibiteurs [23] Cependant, le

développement des technologies portant sur la production de carburant 2<sup>de</sup> génération tendent diminuer le coût de l'hydrolyse enzymatique.

### C. Le bioéthanol de troisième génération

Les algues sont considérées comme la matière première potentielle pour la production de bioéthanol de troisième génération car la biomasse peut être convertie directement en énergie. Généralement, l'utilisation de cette matière première pour la production de bioéthanol dépend de facteurs tels que la technologie et l'environnement marin. [24]

### D. Comparaison entre les trois générations

Tableau I.5 : Les trois générations de bioéthanol[25]

Génération de Bioéthanol	Première Génération	Deuxième Génération	Troisième Génération
Source de matière première	Culture comestible (canne à sucre, maïs, betterave).	Culture non comestible (résidus agricoles et forestiers)	Biomasse Algale
Utilisation des terres pour la culture	Croque sur les terres arables	Croque sur les terres arables et marginales	Eau de mer, Eaux douces, Eaux usées
Technologies de conversion	Extraction de sucre, Fermentation Et Distillation	Prétraitement, hydrolyse, fermentation, distillation	Distillation et Fermentation
Rendement en Bioéthanol	Faible	Moyen	Elevé
Impact sur l'environnement	Faible apport à l'atténuation du CO <sub>2</sub>	Contribution élevée à l'atténuation du CO <sub>2</sub>	Contribution élevée à l'atténuation du CO <sub>2</sub>
Avantages ou Inconvénients	Processus de conversion Relativement simple	Pas de concurrence avec la ressource alimentaire	Investissements limités et difficultés dans la conception des processus

## I.4 Conclusion

La production d'éthanol cellulosique fait actuellement l'objet de nombreuses recherches. Elle reste une voie d'avenir due à la disponibilité de la matière première ainsi que la possibilité de fermenter l'ensemble de la plante simultanément.

**Chapitre II :  
Générations et techniques  
d'extraction de Bioéthanol**

---

## Chapitre II : Générations et techniques d'extraction de Bioéthanol

### II.1 Introduction

La betterave sucrière est une culture plus polyvalente que la canne à sucre car elle peut s'accommoder d'un large éventail de conditions pédologiques et climatiques. Outre le jus sucré, la mélasse de betterave produite en grande quantité par la sucrerie suite à l'opération de récupération des saccharoses peut constituer également la matière première de l'unité de production d'éthanol.

La production à partir de la betterave se fait par fermentation du sucre contenu dans les jus extraits, dans les sirops issus de la cristallisation ou de la mélasse. L'éthanol est ainsi utilisé dans l'industrie (solvant pour la chimie, parfumerie, pharmacie), et aussi en carburant, appelé bioéthanol. Le super éthanol-E 85 contient entre 65 % et 85 % de bioéthanol, et 15 à 35 % d'essence. Alors que le SP95-E10 contient 90% d'essence d'origine fossile et jusqu'à 10 % de bioéthanol.

Les procédés de traitement de la betterave proposés par plusieurs unités de recherche se basent sur le Lavage, le brassage / clarification / extraction, l'évaporation, la fermentation avec de la levure standard (discontinue ou continue), la distillation, la déshydratation de l'éthanol et dernièrement le traitement des vinasses.

La Champagne-Ardenne en France fait partie des leaders en production de betterave. Deux coopératives sucrières Cristal Union et Tereos, parmi les plus grandes d'Europe, y sont présentes localement pour valoriser les betteraves à la fois en sucre, en éthanol et en alcool. L'institut Européen de la Bio raffinerie (IEB) implanté à Pomacle -Bazancourt est un exemple de l'implication des acteurs de la filière dans la recherche et l'innovation. Pour la transformation de la betterave en alcool-éthanol, il y a 3 distilleries :

- 2 établissements du groupe Cristal Union à Bazancourt (51) et Arcis-sur-Aube (10)
- 1 établissement du groupe Tereos à Connaitre (51)

Pour une capacité de production égale à 3,6 millions d'hectolitres d'éthanol par an sur les 8,9 millions d'hectolitres produits en France en 2014 à partir de la betterave. Donc, 1 tonne de betteraves = 160 kg de sucre + 500 kg de pulpes humides + 38 kg de mélasse. [4-5]

Dans ce chapitre, nous allons exposer les différentes techniques utilisées dans l'extraction de bioéthanol à partir de la betterave.

## II.2 Projets de production de bioéthanol

Le bioéthanol est produit par fermentation du sucre provenant des cultures sucrières (canne à sucre, betteraves, blé), ou provenant des cultures contenant de l'amidon (graines). La structure de l'amidon est une longue chaîne de polymère de glucose. Ce polymère ne peut pas être fermenté directement, la structure doit d'abord être cassée en des molécules de glucoses plus petites puis dissoute dans de l'eau. Ce mélange est ensuite chauffé et traité avec une enzyme. Cette enzyme permet d'hydrolyser l'amidon en chaîne courte de glucose et est appelée amylase (enzyme digestive). La fermentation transforme alors les sucres ou l'amidon en éthanol et en dioxyde de carbone grâce à des levures telles que *Saccharomyces*. En théorie 51% du glucose est convertie en éthanol, le reste est utilisé par la levure comme source d'énergie ce qui diminue l'efficacité de 40 à 48%.

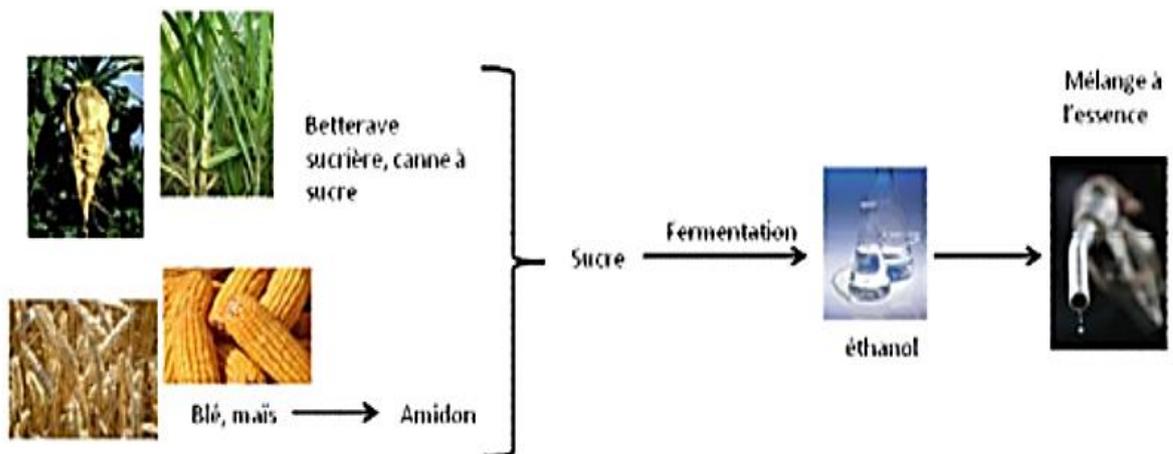


Figure II.1: Le bioéthanol de la production à l'utilisation[26]

Le **Tableau II.1** donne quelques caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol.

**Tableau II.1** : Propriétés physico-chimiques de l'éthanol. [27]

<b>Paramètre</b>	<b>Unité</b>	<b>Bioéthanol</b>
<b>Formule</b>	/	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
<b>masse moléculaire</b>	g/mol	46,069
<b>Apparence</b>	/	Liquide incolore
<b>Densité</b>	kg/litre	0,79
<b>Indice d'octane (RON)</b>	/	102-103
<b>Indice d'octane (MON)</b>	/	89-96
<b>Chaleur latente de vaporisation</b>	kJ/kg	842-930
<b>Pression de vapeur</b>	kPa	15-17
<b>Température d'allumage</b>	°C	420
<b>Température de fusion</b>	°C	-144,4
<b>Température de vaporisation</b>	°C	78,4
<b>Point d'éclair</b>	°C	12,7
<b>Solubilité dans l'eau</b>	% en volume	100

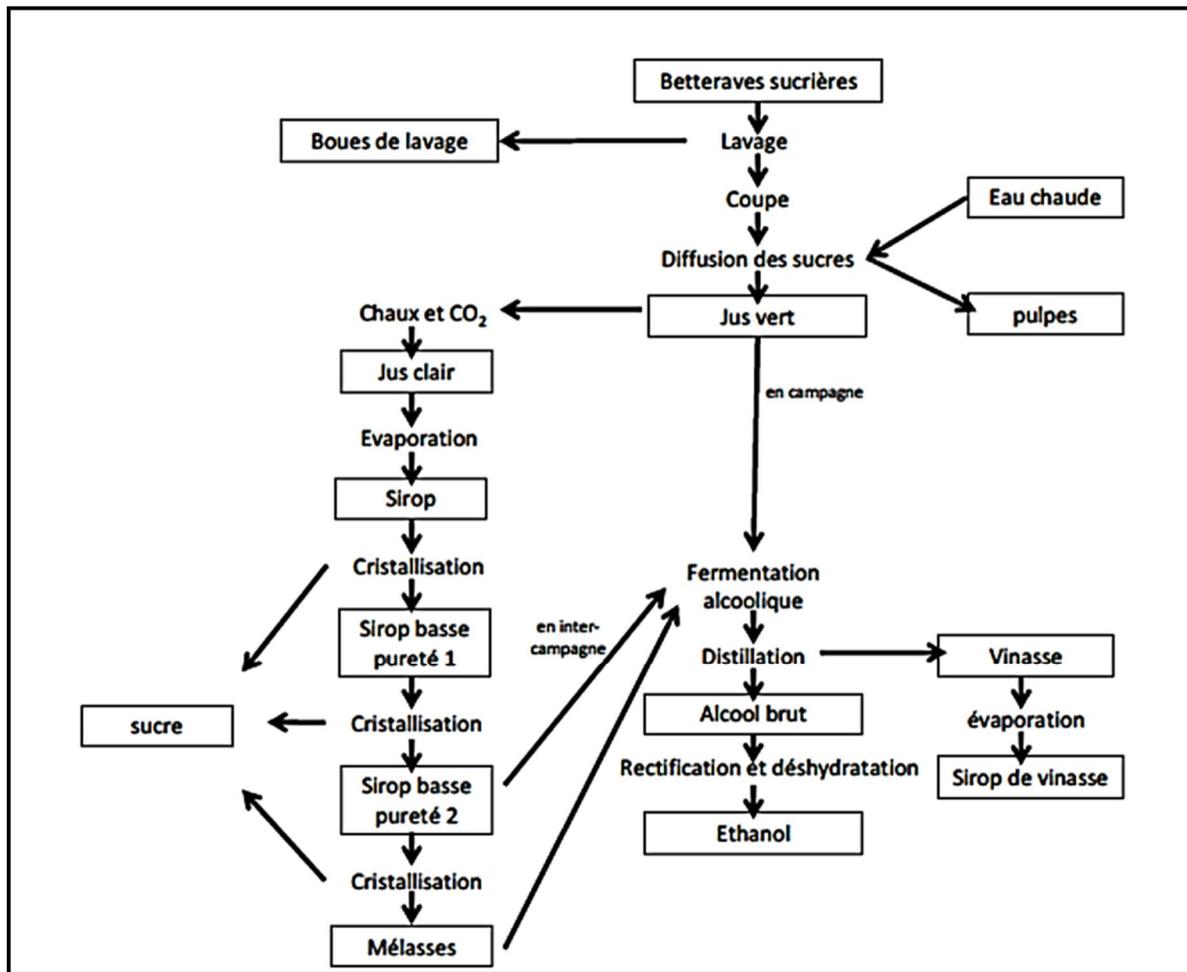


Figure II.2 : Schéma de production de bioéthanol à partir de betteraves sucrières.[9].

### II.2.1. Projets de production de bioéthanol à l'échelle mondiale

L'éthanol a différents débouchés, tels que l'alcool de bouche, l'alcool industriel et l'éthanol carburant. L'évolution de la production d'éthanol pour l'industrie ou pour la consommation humaine a été relativement stable de 2001 à 2010 passant de 12 000 000 m<sup>3</sup> à 15 000 000 m<sup>3</sup>. Dans les années 1990, l'éthanol à partir du pétrole représentait 7% du marché de l'éthanol. En 2006 ce même éthanol représentait moins de 4% du marché et en 2009 il n'était plus produit par voie fermentaire. Ceci peut s'expliquer par deux choses ; l'augmentation du prix du pétrole depuis les années 2000, et donc celui de l'éthylène, et la baisse du prix de l'éthanol. L'augmentation de la production est essentiellement liée à l'utilisation de l'éthanol en tant que carburant. Suites aux informations publiées dans [28] la part de

---

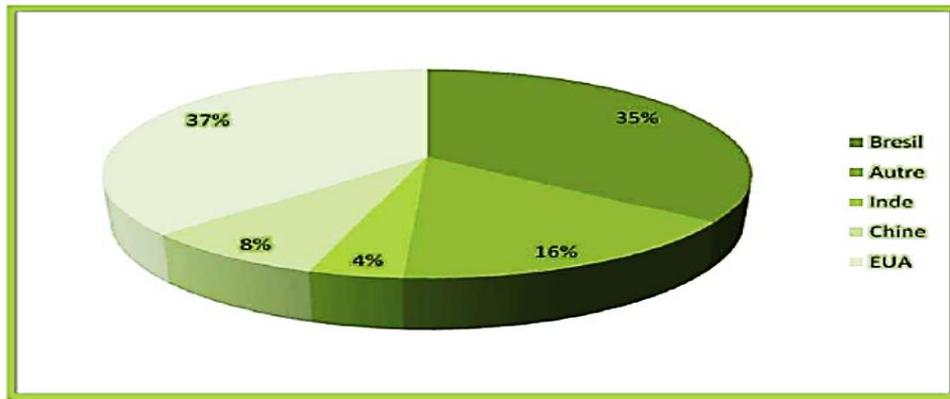
l'éthanol carburant sur le marché de l'éthanol est passée de 2001 à 2010 de 58 à 80 %. L'augmentation de la production d'éthanol carburant, suivant la revue [20] est devenue presque exponentielle depuis 2000. Cette tendance devrait être conservée au moins jusqu'en 2015 suite aux raisons ci-dessous expliqués par [29]

- l'augmentation du prix du pétrole et à son instabilité
- l'augmentation des demandes énergétiques des pays émergents
- la diminution des réserves de pétrole
- l'intérêt environnemental de l'utilisation d'éthanol carburant
- l'instabilité politique des régions productrices de pétrole

En effet, suite à une forte sécheresse sur le continent nord-américain et donc de faibles récoltes, la FAO a demandé aux Etats-Unis de limiter la production d'éthanol pour réorienter une partie du maïs vers le marché de l'alimentaire.

Aussi Actuellement, les plus grands producteurs mondiaux de bioéthanol se concentrent dans trois régions. En tête : les Etats Unis avec une part de 48 % de la production mondiale de biocarburants (bioéthanol) ; le Brésil avec 22 % ; l'Union Européenne avec 16 % (2012).

Ces trois régions produisent, à elles seules, plus de 86 % de la production mondiale de biocarburants comme le montre la **Figure II.3**. Ainsi, les Etats-Unis se fixent un objectif de 36 milliards de gallons (136,27 milliards de litres) de biocarburants, dont 79,5 milliards de litres provenant de carburants de nouvelle génération. En avril 2009, le Conseil Européen a adopté la Directive 2009/28/CE relative à la promotion et l'utilisation des énergies renouvelables, portant ainsi l'objectif de consommation d'énergie renouvelable dans le secteur des transports à 10%. Par ailleurs, de nombreux pays prévoient d'accroître leur consommation de carburants renouvelables. D'après les projections faites par le FAO et l'OCDE, la production annuelle mondiale en 2020 devrait pratiquement doubler par rapport à la production de 2008 pour atteindre 196,87 milliards de litres. [29]



**Figure II.3 :** Distribution de la production mondiale de bioéthanol (2006).[11]

### II.2.2. Projets de production de bioéthanol à l'échelle continentale

L'Afrique peut devenir un grand producteur d'éthanol extrait à partir de la biomasse comme il est indiqué dans le **Tableau II.2**. Les résidus des végétaux contenant du saccharose comme la canne à sucre, l'amidon, le maïs, le sorgho ou le manioc peuvent être transformés pour donner du bioéthanol, obtenu par fermentation du sucre extrait de la plante sucrière. Cet éthanol d'origine biologique n'est rien d'autre que de l'alcool éthylique, le même que celui que l'on trouve dans toutes les boissons alcoolisées. Il peut être mélangé à l'essence en des proportions allant de 5 à 85%. Au-delà de 20% des adaptations aux moteurs de voitures sont nécessaires. C'est la raison pour laquelle les pétroliers européens préfèrent transformer l'éthanol en ETBE (éthyle tertio butyle éther) qui peut être incorporé à l'essence jusqu'à hauteur de 15%. L'ETBE aurait l'avantage d'être mieux adapté aux moteurs. En effet, l'incorporation directe de l'éthanol à l'essence pose certaines difficultés techniques : le mélange essence/éthanol a une pression de vapeur plus élevée et tolère mal la présence de traces d'eau. [30]

**Tableau II.2 :** Pays africains producteurs de bioéthanol en Afrique.[9].

Pays	Million (gallon)
Sud d'Afrique	110
Soudan	26
Zimbabwe	6
Kenya	3

### II.2.3. Projets de production de bioéthanol à l'échelle nationale

A l'instar d'autres pays Africains qui ont développé des programmes industriels intégrés pour la production d'éthanol à partir de biomasse végétale, l'Algérie, possède un potentiel

considérable en déchets et sous-produits de plantes qui contiennent le saccharose ce qui permet de lancer un programme très riche. La production d'éthanol à partir de betterave constitue une solution intéressante sur le plan économique. Cet alcool peut remplacer avantageusement celui obtenu par voie chimique à partir des produits pétroliers. En outre, l'intérêt de produire de l'éthanol vient du fait que c'est une substance énergétique et son utilisation couvre un champ étendu d'activités industrielles: fabrication d'intermédiaires chimiques (produits de beauté, parfums, cosmétiques, produits pharmaceutiques, de solvants, de détergents, etc. Enfin, il est utile de signaler, selon la Régie des Alcools, que notre pays importe entre 30000 et 50000 hectolitres d'alcool éthylique par an afin de couvrir ses différents besoins. En considérant les conditions climatiques, la disponibilité de la matière première, les exigences technologiques et la demande nationale en alcool, un programme expérimental au niveau des laboratoires et à l'échelle pilote a été entrepris. [31]

### II.3 Avantages et inconvénients du bioéthanol

Le bioéthanol présente de nombreuses dualités comme résumé dans le **Tableau II.6**, sa formule chimique étant  $C_2H_5OH$ , il est qualifié de carburant oxygéné, il peut améliorer, dans le cas d'un mélange, les performances de l'essence en diminuant les problèmes de combustion à hauts régimes. L'oxygène contenu dans l'éthanol améliore la combustion du carburant, en diminuant la production de monoxyde de carbone, les quantités d'hydrocarbures non brûlés qui participent à la formation de l'ozone dans les couches inférieures de l'atmosphère et les particules émises responsables de nombreux troubles respiratoires et du noircissement des bâtiments.

**Tableau II.3:** Avantages et inconvénients du bioéthanol. [18]

Avantages	Inconvénients
Diminution des émissions de dioxyde de carbone et meilleur rendement énergétique des moteurs à explosion	Les véhicules utilisant l'E85 produisent des émissions plus élevées d'oxyde d'azote, d'éthylène et d'acétaldéhyde que les véhicules à essence

Indice d'octane* élevé permettant un meilleur efficacité des moteurs à explosions	Indice de cétane** faible ne permettant pas son utilisation dans les moteurs à combustion interne sans l'ajout d'un accélérateur d'ignition
Diminution des émissions de particules, de soufre, de benzène et de butadiène 1-3	Augmentation des émissions d'hydrocarbures par évaporation nécessitant un réglage de la pression de vapeur du carburant
Risque moins élevé de formation d'ozone que l'essence et le diesel	Emission d'acide acétique en cas de réaction entre le catalyseur et le carburant résiduel à l'échappement
Biodégradable	Corrosion des pièces en contact avec l'éthanol
Capacité énergétique inférieure à celle de l'essence (21285 kJ kg <sup>-1</sup> pour l'éthanol contre 32020 kJ kg <sup>-1</sup> pour l'essence)	Augmentation de la consommation volumique de carburant
Diminution de la dépendance aux pays producteurs de pétrole	Prix encore élevé
Stimulation du milieu rural	Concurrence entre alimentation et énergie
Utilisation flexible de 0 à 100%	Problèmes de stabilité de phase dans le mélange d'essence en cas de présence d'eau (dé miscibilité)

\* L'indice d'octane exprime les caractéristiques antidétonantes d'un carburant. Il correspond au pourcentage d'isooctane contenu dans un mélange d'isooctane et d'heptane normal qui lorsqu'il est utilisé pour alimenter un moteur CFR (Coopérative Fuel Research) fonctionnant dans des conditions normalisées, provoque la même intensité de détonation que l'essence testée.

\*\* L'indice de cétane est : correspond à la capacité qu'a un carburant à s'enflammer. Il est particulièrement important pour les moteurs diesel où le carburant doit s'auto-enflammer sous l'effet de la compression. Un indice de cétane élevé facilite donc l'auto-combustion d'un carburant.

## II.4 Domaines d'utilisation du bioéthanol

Le bioéthanol peut être utilisé, sous certaines conditions, comme carburant dans les moteurs à essence, soit de 5 à 20% dans les moteurs à essence sans modification et/ou de 85 à 100% dans des moteurs à essence spécifiquement adaptés. En outre, l'éthanol peut être converti en divers produits de base de l'industrie chimique tels que, l'éthylène, l'éther et l'éthyle tertio butyle (ETBE), conventionnellement, produits à partir du pétrole (voir **Figure II.4**). Il est à signaler que le plastique résulte de la polymérisation de l'éthylène et de

l'ETB Emélangé à raison de 15% à l'essence, permet d'augmenter l'indice d'octane du carburant, contrairement à l'éthanol, il ne favorise pas l'évaporation des carburants et n'absorbe pas l'humidité de l'air. [31]

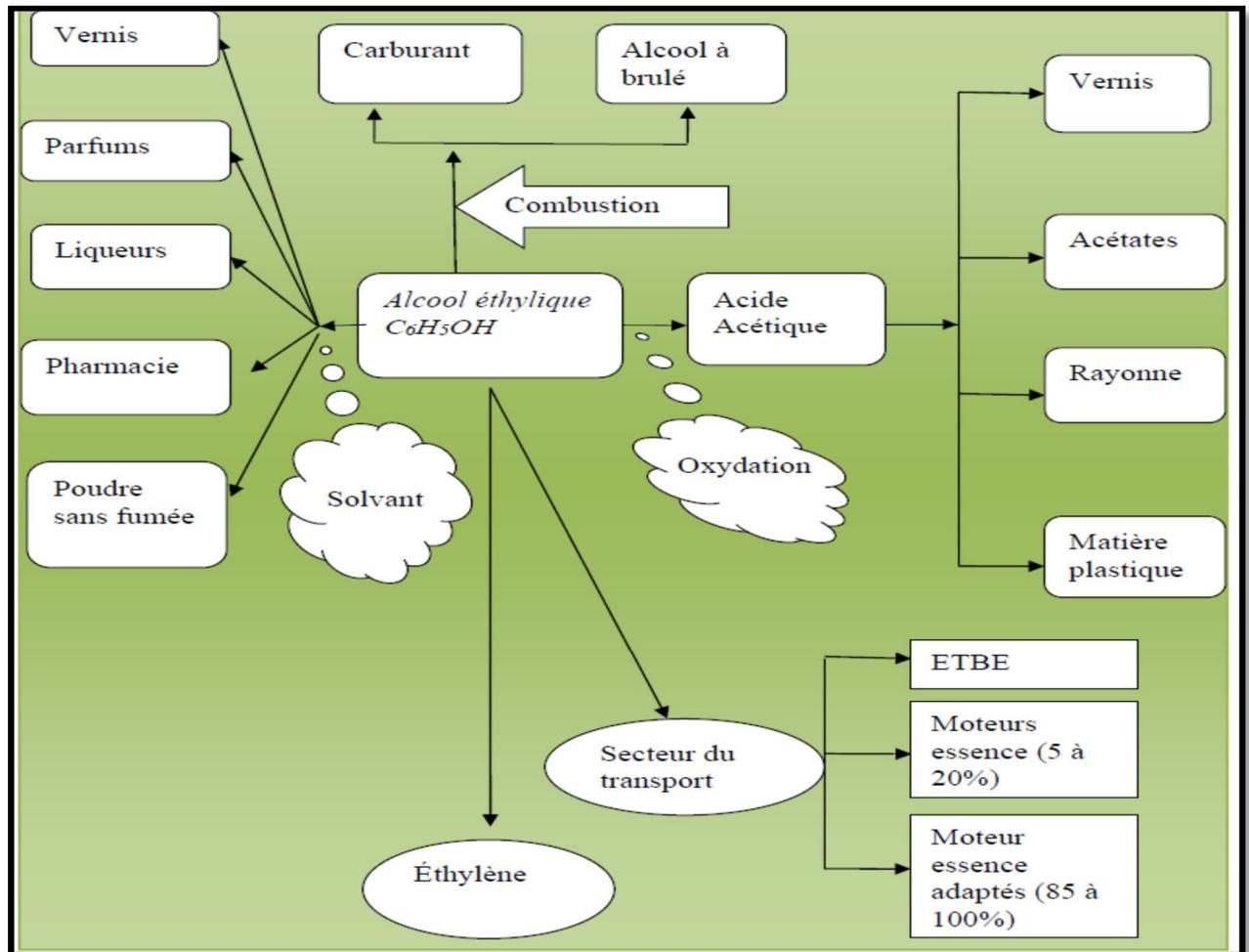


Figure II.4 : Domaines d'utilisation du bioéthanol. [32,33]

## II.5 Conclusion

Parmi les objectifs principaux de ce travail est l'optimisation des conditions de culture de *Saccharomyces cerevisiae* pour des milieux à haute densité, réalisés à partir de produits industriels nommés sirops basse pureté (SBP), issus de la seconde cristallisation de jus de betteraves concentrés. Pour ce faire il a fallu à la fois optimiser la composition du milieu de culture mais aussi le procédé de fermentation [7].

# **Chapitre III : Méthodologies d'extraction de biomasse**

# Chapitre III : Méthodologies d'extraction de biomasse

## III.1. Introduction

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

La fermentation alcoolique (qui produit des alcools) consiste en une biotransformation des jus de fruits ou toute solution sucrée en vin et fait intervenir des phénomènes physiques, biochimiques et biologiques complexes. Elle consiste en la transformation par les levures, principalement *Saccharomyces cerevisiae* des sucres du moût, principalement le glucose et le fructose en éthanol et en dioxyde de carbone. Dans une fermentation alcoolique en batch, environ 30 à 35% de la source de carbone est convertie pour produire la biomasse cellulaire tandis que 50% d'hydrates de carbone est transformée en éthanol. Le reste des sucres est utilisé pour la production de l'énergie et l'entretien des cellules. Par ailleurs, les méthodes moléculaires basées sur l'analyse de l'ADN sont maintenant utilisés pour identifier rapidement la levure jusqu'à son espèce. Les fermentations sont des procédés multiphasiques. Ceci pose des contraintes biologiques et physico-chimiques.

Les cellules vivantes constituent un système organisé avec des entrées de substrats, d'oxygène, de facteurs de croissance et des sorties de déchets comme le CO<sub>2</sub> et l'éthanol.

La partie active de la matière vivante, que constituent les protéines, nécessite un environnement adéquat du point de vue du pH, de la température. Ceci permet le développement, la maintenance et la reproduction des cellules dans de bonnes conditions[18].

## III.2. Energie de biomasse et voies de production

### III.2.1. Définition de la biomasse

La biomasse est une source d'énergie renouvelable unique puisqu'elle peut se présenter sous forme liquide, solide, ou encore gazeuse [18]. Dans le domaine de l'énergie, la Biomasse regroupe « la fraction biodégradable des produits, déchets et résidus provenant de

l'agriculture, y compris les substances végétales et animales, de la sylviculture et des Industries connexes ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et ménagers [34]

### III.2.2. Définition de la biomasse végétale

La biomasse végétale est constituée principalement de matière organique ainsi que de matière inorganique en plus faible quantité. La matière organique à l'échelle macromoléculaire consiste en la cellulose, l'hémicellulose, la lignine et des matières extractibles [34]. Cette matière doit être hydrolysée afin de la rendre accessible aux micro-organismes. Dans un premier lieu, la biomasse subit un prétraitement afin d'en la lignine. Au cours de cette étape, une partie de l'hémicellulose peut être convertie en sucres. En second lieu, la cellulose et l'hémicellulose restantes subissent une hydrolyse acide ou enzymatique et les sucres obtenus sont par la suite fermentés en Éthanol.

### III.2.3. Composition de la biomasse

La biomasse ligno cellulosique peut être classifiée en 4 groupes en fonction du type de ressources:

- Les résidus forestiers, les déchets solides municipaux, les déchets de papier et les résidus des cultures.
- La biomasse ligno cellulosique est composée de cellulose, d'hémicellulose et de lignine dans des quantités variables. Elle contient aussi jusqu'à 10 % de substances minérales (cendres, silice) et son taux d'humidité varie de 10% à 80%.
- La cellulose est composée de chaînes linéaires de glucose. Son hydrolyse donne donc des glucoses facilement fermentables en éthanol. Mais ses fibres sont protégées par l'hémicellulose et la lignine.
- L'hémicellulose est composée de chaînes de différents sucres à 5 carbones (xylose, arabinose) ou 6 carbones (glucose, galactose, mannose). Elle est facilement hydrolysable. Par contre, les sucres à 5 carbones ne sont pas assimilables par les bactéries habituelles.
- La lignine est formée d'alcools aromatiques et d'autres molécules organiques liés et fortement réticulés. Ses composants ne sont donc pas fermentables [36]

### III.2.4 Ressources de biomasse

Les filières agricoles, forestières et l'industrie agro-alimentaire sont les principaux agents fournisseurs de biomasse. Cette biomasse est susceptible d'être valorisée énergétiquement avec production de biodiésel, bioéthanol, bio méthane et hydrogène. Les différentes voies de production de bioéthanol à partir des plantes sucrière (betteraves, datte...) et de plantes lignocellulosique sont décrites dans les paragraphes suivants. [17]

### III.2.5. Avantages et inconvénients de la biomasse

La biomasse, de par sa grande diversité animale et végétale est renouvelable et durable. Elle est donc une ressource d'énergie renouvelable, propre et respectueuse de l'environnement. Elle est transformée selon différentes voies en vue de produire de la Bioénergie et des produits d'intérêt. Elle présente donc plusieurs avantages mais possède également des inconvénients ; ces derniers sont résumés sur le **Tableau III.1**

**Tableau III.1** : Avantages et inconvénients des différentes ressources de biomasse [37].

Avantages	Inconvénients
La préservation des ressources de matière premières comme le pétrole brut	L'extension de l'utilisation de la biomasse à des terres naturelles inutilisées peut détruire les écosystèmes. La déforestation a un effet négatif substantiel sur l'empreinte carbone.
La possibilité de la production d'énergie neutre en carbone	L'apparition de monocultures (culture du maïs). La concurrence pour l'utilisation des terres restera toujours un facteur important pour la biomasse et la bioénergie.
La production de bioénergie peut améliorer la situation économique des zones rurales et freiner l'exode vers les villes	Des terres de grande valeur écologique pourraient être menacées par la promotion de la culture de plantes agricoles.
La bioénergie provenant de la sylviculture et de l'agriculture joue un rôle clé dans la lutte contre le changement climatique et elle accroît la sécurité de l'approvisionnement en énergie.	La combustion de la biomasse solide (comme le bois) cause des émissions de polluants (monoxyde de carbone, particules,..) plus importantes que la combustion de pétrole ou de gaz, à moins que des mesures supplémentaires ne soient prises.

### III.2.6. Prétraitement de biomasse

C'est un traitement nécessaire pour rendre la cellulose accessible à l'hydrolyse (modifier les propriétés physiques et physicochimiques de la lignocellulosique) par différentes actions. Ces actions peuvent être en fonction du type de prétraitements [35]. En plus des prétraitements physiques, thermochimiques et biologiques **Tableau III.2**. Les procédés

## Chapitre III : Techniques d'extraction de biomasse

chimiques ont été largement utilisés. Ils comprennent l'hydrolyse acide, alcaline ou encore le procédé.

**Tableau III.2** : Différents procédés de prétraitement de la biomasse [11,38].

Type de procédés	Exemple
Procédés physiques	broyage et radiations de haute énergie
Procédés chimiques	- Avec des acides - Avec des bases - Avec des solvants organiques (organosolv) - Avec des agents oxydants - Avec des liquides ioniques
Procédés Thermochimiques	- Explosion à la vapeur - Prétraitements à l'ammoniac - Explosion au CO <sub>2</sub> - Prétraitement mécanique/alcalin - Torréfaction
Procédés biochimiques	- Utilisation de champignons pour rendre soluble la lignine
Combinés	- Explosion de vapeur catalysée

### III.3. Production du bioéthanol

La production du bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique comporte plusieurs étapes:

- 1- le prétraitement est nécessaire pour libérer de la cellulose et l'hémicellulose avant hydrolyse,
- 2- l'hydrolyse de la cellulose et de l'hémicellulose afin de produire des sucres fermentescibles tels que le glucose, xylose, arabinose, galactose et mannose,
- 3- La fermentation des sucres réducteurs,
- 4- La distillation [39].

#### III.3.1. Hydrolyse

Le prétraitement acide de la biomasse (plantes lignocellulosique, résidus d'agriculture, algues, etc.) a reçu une attention considérable de la recherche. Les hémicelluloses sont les premiers des constituants de la biomasse à se rompre durant l'hydrolyse acide. Lorsque l'acide sulfurique est utilisé, une concentration de 0,01 M est généralement suffisante pour

rompre les hémicelluloses en leurs monomères [40]. Par exemple, le saccharose présent dans cette biomasse peut ainsi être hydrolysé en glucose et en fructose en milieu acide. Autrement dit l'hydrolyse c'est la décomposition du saccharose en D-glucose et D-fructose.

Il existe différentes méthodes d'hydrolyse de la ligno cellulose. Elles sont classées en deux groupes: hydrolyse chimique et hydrolyse enzymatique. Plusieurs produits peuvent résulter de cette hydrolyse.

### A.L'hydrolyse chimique

Elle implique l'exposition de la ligno cellulose à un produit chimique pour une période de temps et une température spécifique. Il existe deux types basiques d'hydrolyse chimique: hydrolyse à l'acide concentré et hydrolyse à l'acide dilué chacune avec des variations. [35]B.

### L'hydrolyse enzymatique

C'est une alternative écologique qui consiste à utiliser des enzymes (cellulases et hemicellulases) afin d'hydrolyser la lignocellulose en sucres fermentescibles. Les enzymes sont produites par différents microorganismes, généralement par des bactéries et des levures. Les microorganismes peuvent être aérobies ou anaérobies, mésophiles ou thermophiles.

### III.3.2. la fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique consiste à transformer les sucres fermentescibles en anaérobiose par des levures en alcool et gaz carbonique avec dégagement de calories selon la réaction suivante [41]:

Sucres + Levures Ethanol + CO<sub>2</sub> + Energie

La fermentation alcoolique est réalisée dans un milieu riche en sucres. Le moût est introduit dans le fermenteur puis inoculé avec le milieu de pré-fermentation. La fermentation dure de 40 à 72 heures et température est fixée ente 28 et 30 °C [42].

Les sucres les plus abondants sont le glucose et le fructose. L'espèce de levures principalement responsable de la fermentation alcoolique est *Saccharomyces cerevisiae* La

### Chapitre III : Techniques d'extraction de biomasse

---

Voie métabolique utilisée pour la consommation de sucres, en condition anaérobie, qui comporte la glycolyse, produit dans cette étape deux molécules d'ATP pour une molécule de sucre consommé. Durant cette réaction, deux molécules de cofacteur NAD<sup>+</sup> sont réduites en NADH. La production d'éthanol à partir du pyruvate de la glycolyse est la conséquence de la réduction de ces cofacteurs. Lors de la fermentation alcoolique, la macération provoque l'extraction de la couleur. La fermentation se déroule en milieu non renouvelé.

La croissance de *Saccharomyces cerevisiae* peut être limitée par l'accumulation des substances toxiques. Signale que les acides gras (l'acide octanoïque, decanoïque, formés par les levures, deviennent toxiques pour elle. Pour remédier à ce phénomène, une pincée de charbon était additionnée aux moûts avant ensemencement pour faciliter la reprise de la fermentation [43].

Les fermentations sont des procédés multiphasiques, ce qui pose des contraintes biologiques et physico-chimiques. Les cellules vivantes constituent un système organisé avec des entrées de substrats, d'oxygène, de facteurs de croissance et des sorties de déchets comme le CO<sub>2</sub> 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 le développement, la maintenance et la reproduction des cellules dans de bonnes conditions.

Les systèmes multiphasiques posent des problèmes de transferts entre chacune des phases, ce qui entraîne, lors de leurs mises en œuvre à grande échelle, l'hétérogénéité du milieu.

### III.4. Les caractéristiques de la levure boulangère type « *saccharomyces cerevisiae* »

#### III.4.1. Définition de la levure boulangère type (*saccharomyces cerevisiae*)

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. Elle a été découverte, isolée et identifiée au milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle. Ce champignon, capable de métaboliser des sucres, (saccharo-) responsable de la fermentation fut appelé *Saccharomyces cerevisiae* par Mayen en 1837 [42].

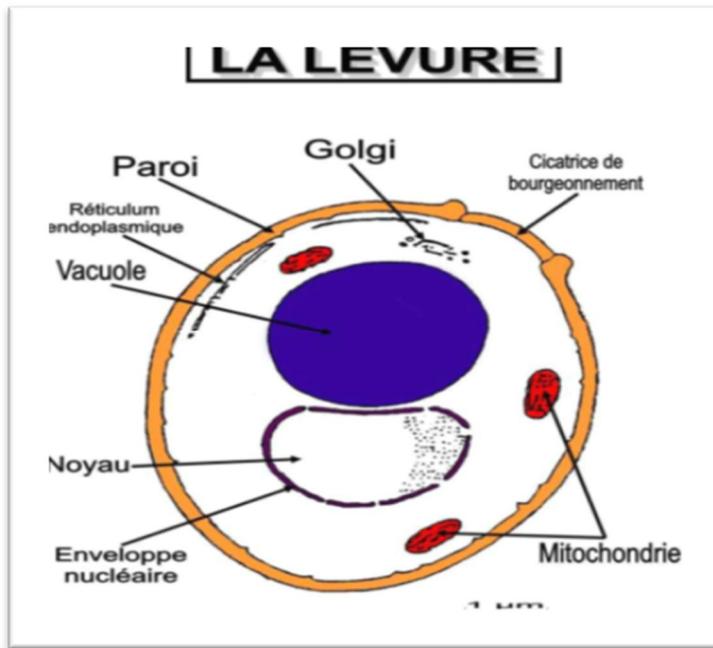
#### III.4.2. Rôle de la levure *Saccharomyces cerevisiae*

Depuis l'Antiquité, les Babyloniens, les Égyptiens et 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 de ne 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 santé et du biocarburant

#### III.4.3. Morphologie et Structure

Les levures se caractérisent par la présence des éléments cités ci-dessous (voir Figure III.1): Noyau ; Mitochondrie ; Appareil de Golgi ; Chromosomes.

Les cellules végétatives sont généralement ovoïdes ou sphériques. Leur taille cellulaire varie de quelques microns jusqu' à 25 à 30 microns [18].



**Figure III.1:** La structure morphologique et les constituants de la levure type (*saccharomyces cerevisiae*).

### II.4.4. Cycle de vie

La levure *Saccharomyces cerevisiae* existe sous deux formes diploïde ou haploïde qui peuvent suivre deux types de divisions cellulaires : la reproduction végétative et la reproduction sexuée. La ploïdie est la répétition de chromosome. Les cellules sont haploïdes lorsque les chromosomes qu'elles contiennent sont chacun en un seul exemplaire ( $n$  chromosomes). Au contraire, les cellules avec des chromosomes en double exemplaire ( $2n$  chromosomes) sont diploïdes. La reproduction cellulaire est différente en fonction du génotype de la construction cellulaire.

Dans le cycle de vie de *Saccharomyces cerevisiae*, les haploïdes (MAT a ou  $\alpha$ ) émettent des phéromones (facteur a ou  $\alpha$ ) qui sont détectées par les cellules de type sexuel opposé grâce à des récepteurs spécifiques. La fusion cellulaire et nucléaire des deux cellules haploïdes aboutit à la formation d'une cellule diploïde qui se multiplie ensuite par bourgeonnement (reproduction végétative) ou forme des spores. [5].

Les cellules diploïdes (MAT a et  $\alpha$ ) se multiplient seulement en mode végétatif et produisent des nouveaux diploïdes. Une nouvelle cellule est formée par la division depuis sa cellule « mère ». Lors du bourgeonnement, la cellule « mère » forme un bourgeon à sa surface. Pendant que le bourgeon grossit, le noyau de la cellule mère se divise (mitose). Une paroi cellulaire commence à se former entre la cellule mère et le bourgeon. Lors que la taille de la nouvelle cellule acquiert 2/3 de celle de sa mère, elles se séparent et deviennent deux cellules individuelles [43].

#### III.4.5. Croissance microbienne

La courbe de croissance microbienne en mode discontinu fait apparaître différentes phases

- A. La phase de latence** : elle correspond à une période d'adaptation métabolique du micro-organisme au milieu. Elle est réduite au maximum en fermentation industrielle.
- B. La phase exponentielle de croissance** : c'est la phase au cours de laquelle la vitesse Spécifique de croissance est  $\mu_{\text{expo}}$  maximale. La quantité de nutriments est en excès et la Biomasse augmente donc le plus rapidement. Les produits formés au cours de cette phase Sont les métabolites primaires. Tant que n'apparaît pas de facteur limitant la croissance, la phase exponentielle se poursuit. En coordonnées semi-logarithmiques  $\ln X = f(t)$ , la courbe de la phase exponentielle est une droite. Pour cette phase, on a la relation :

$$\frac{dx}{dt} = \mu X \quad \rightarrow \quad \ln = \frac{X_t}{X_0} = \mu t$$

Pendant la phase exponentielle, la vitesse spécifique atteint sa valeur maximale ; elle est Notée  $\mu_{\text{max}}$ . On a alors :

$$X_t = X_0 e^{\mu_{\text{max}} t}$$

(Eq.II.1)

## Chapitre III : Techniques d'extraction de biomasse

$X_t$  est la biomasse microbienne à l'instant  $t$  (g/L),

$X_0$  est la biomasse microbienne initiale (g/L),

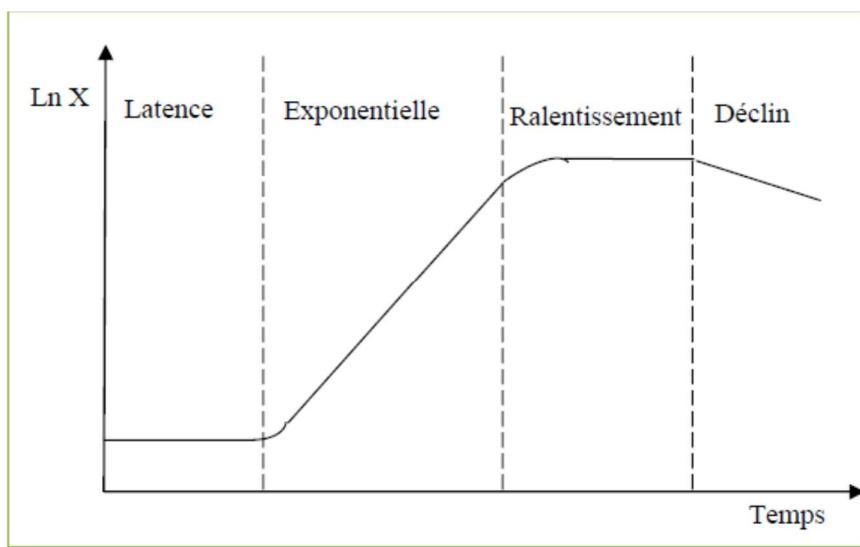
$\mu_{max}$  est la vitesse spécifique de croissance pendant la phase exponentielle (h<sup>-1</sup>),

$T$  est le temps (h).

La biomasse microbienne  $X_t$  peut être remplacée par soit par la concentration d'oxygène (procédé aérobie) ou la concentration de gaz carbonique (procédé anaérobie) qui varie avec le temps. L'équation (II.1) reste alors valable.

**C. La phase stationnaire** : elle apparaît après une phase de ralentissement. Elle fait suite à la consommation des nutriments et à la présence de déchets microbiens.

**D. La phase de déclin** : elle correspond à la diminution de la biomasse qui est liée à une lyse cellulaire.



**Figure III.2** : Les phases de la croissance bactérienne en mode discontinu [44].

### III.4.6. Conditions de culture

*Saccharomyces cerevisiae* peut être cultivée dans un milieu liquide ou solide. L'énergie et les éléments nutritifs nécessaires à la croissance et la prolifération de la levure doivent être assurés. La compréhension des conditions de culture permet de produire des levures qui présentent des caractéristiques intéressantes. Deux types de milieu peuvent être utilisés pour

### Chapitre III : Techniques d'extraction de biomasse

cultiver la levure : un milieu riche sélectif et un milieu synthétique. Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires à la croissance et aux besoins énergétiques de la levure. La biomasse est composée principalement d'eau et des éléments CHON (carbone, hydrogène, oxygène, azote) ; le milieu doit donc fournir ces éléments pour permettre la croissance. Les besoins des levures pour leur croissance sont les suivants :

**Tableau III.3** : les éléments nutritifs consommé par le (*saccharomyce cerevisiae*) lors de sont métabolisme fermentaire [45].

Les éléments nutritifs	Exemples
<b>L'eau</b>	Les levures sont constituées de 75% d'eau et 25% de matière sèche
<b>Une source deCarbone</b>	représente environ 50% du poids sec de la levure
<b>une source d'azote</b>	Les levures contiennent 10% environ d'azote, entrant dans la composition des acides aminés, des acides nucléiques et decertaines vitamines. Il est apporté par le milieu de culture sous laforme de sels d'ammonium (phosphate, sulfate, chlorure et nitrate)
<b>une source desvitamines</b>	des régulateurs et des cofacteurs importants des voies métaboliques. Elles agissent généralement comme coenzymes ou précurseurs d'enzymes. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> est auxotrophe pour les vitamines suivantes qui seront ajoutées au milieu deculture
<b>des oligo-éléments(ions inorganiques)</b>	*les macroéléments : K <sup>+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , Mn <sup>2+</sup> ,Cl <sup>-</sup> dont la concentration nécessaire varie entre 0,1 et 1 mm. *les micro-éléments : Co <sup>2+</sup> , B <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Cr <sup>+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , I <sup>-</sup> , Mo <sup>+</sup> , Ni <sup>2+</sup> pour lesquels une concentration de 0,1 à 100 µM est suffisante

#### III.4.7. Le métabolisme fermentaire des (*saccharomyces cerevisiae*)

En absence totale d'oxygène, (*Saccharomyces cerevisiae*) présente un métabolisme fermentaire. L'oxygène n'est plus l'accepteur final d'électrons, ce rôle est joué par desmolécules organiques comme l'acétaldéhyde. Comme pour le métabolisme oxydatif, leglucose est dégradé par la voie de la glycolyse jusqu'au pyruvate. A ce niveau-là, lepyruvate n'est plus dirigé vers le cycle de Krebs mais est converti en éthanol et CO<sub>2</sub> Lapremière étape est la décarboxylation du pyruvate en acétaldéhyde par la pyruvatedécarboxylase, puis la réduction finale de l'acétaldéhyde en éthanol est catalysée par l'alcool déshydrogénase

utilisant le NADH, H<sup>+</sup> comme coenzyme [46]. Le métabolisme fermentaire produit beaucoup moins d'énergie que le catabolisme aérobie et le cycle de Krebs n'a qu'un rôle anabolique (synthèse de précurseurs), seule la synthèse d'éthanol permet la production d'énergie nécessaire aux besoins de la cellule et la ré-oxydation du NADH produit lors de la glycolyse [46].

### **III.4.8. Influence des paramètres environnementaux sur le métabolisme de la levure**

#### **III.4.8.1 Influence du pH**

La levure *Saccharomyces cerevisiae* présente l'avantage de croître sur un milieu acide, pour lequel la plupart des bactéries ne se développent pas. Elle préfère un pH compris entre 4,5 et 5 [47].

#### **III.4.8.2 Influence de la température**

La température convenable pour la levure *Saccharomyces cerevisiae* se situe entre 25° C et 35° C. Il s'agit d'organismes mésophiles ([48]. l'augmentation de la température accroît 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 provoquent une diminution de la viabilité, et de l'activité cellulaire [49].

#### **III.4.8.3. Influence de l'éthanol**

L'éthanol représente la principale cause de stress et devient toxique à des concentrations allant de 8 à 18% (m/v) pendant la culture et ceci selon l'état physiologique de l'organisme. Une fois la concentration de l'éthanol augmente dans le milieu de culture, on assiste à une diminution de la vitesse de la croissance, de la viabilité cellulaire, de l'activité métabolique et de la capacité de production de la levure. [50].

### III.4.8.4. Influence de l'oxygène

La concentration en oxygène dissous dans le milieu de culture est un paramètre important qui va orienter (en fonction de la souche utilisé, du mode de conduite, ...) le métabolisme du microorganisme considéré. Quelques auteurs comme [51] ont démontré que la tolérance à l'éthanol peut augmenter notablement lorsqu'on maintient un apport de faibles quantités d'oxygène dans le système.

### III.4.8.5. Influence du substrat :

En général, l'inhibition par le substrat se manifeste de façon importante pour des concentrations qui varient entre 150 et 250 g.L<sup>-1</sup> de glucose et à 400 g.L<sup>-1</sup>, la croissance est totalement stoppée [52].

## III.5. 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 [35].

### III.5.1. Récupération du bioéthanol (distillation)

C'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 la haut en 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 appelé

vinasse est éliminé. La vapeur s'enrichit au contraire en alcool 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 [53].

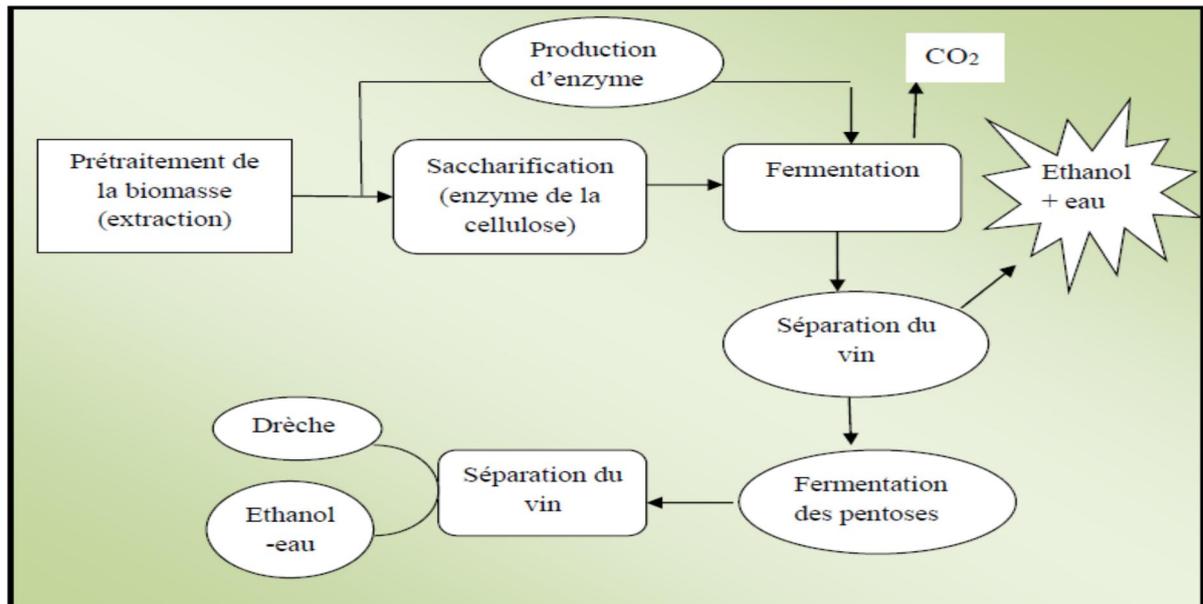
### III.5.2. Purification du bioéthanol

La production de l'alcool rectifié à 96% à partir des moûts de toutes origines se fait par la purification du moût alcoolisé, sur la colonne d'épuration ensuite par la distillation et la rectification du moût épuré. Pour ce qui est la mélasse, la colonne de distillation fonctionne sous vide pour éviter les encrassements. Cette opération peut être complétée par une colonne d'affinage afin d'éliminer les produits légers [53].

## III.6. Techniques de fermentation alcoolique

### III.6.1. Fermentation et hydrolyse séparées

Le mécanisme expliqué par la **Figure III.3** est fondé sur la base de la séparation de l'hydrolyse et la Fermentation en deux processus distincts comme dans le processus de production de bioéthanol normal, l'hydrolyse sera effectuée d'abord pour dégrader les sucres de manomètre de charge par l'utilisation suivie de la réaction de fermentation qui augmentera les sucres dans la phase d'hydrolyse. Un problème majeur associé au processus (SHF) est l'inhibition du produit final par des sucres qui se forment lors de l'hydrolyse [54].



**Figure III.3 :** Technique de fermentation et hydrolyse séparées pour la biomasse Lignocellulosique. [55]

### III.6.2. La saccharification et fermentation simultanée (SFS).

Ce procédé nécessite la présence d'enzymes pour l'hydrolyse (cellulases) et de celles pour fermentation. Ce procédé est appelé conversion microbienne directe. Il consiste à réunir en une seule étape la production de cellulase, l'hydrolyse enzymatique de la cellulose et la fermentation du glucose **Figure III.4**. L'un des problèmes est l'obtention d'un rendement en bioéthanol faible causé par la faible tolérance des microorganismes au bioéthanol. A l'issue de la fermentation, le bioéthanol est formé en mélange avec de l'eau ainsi que d'autres sous-produits de fermentation. Il est donc nécessaire d'isoler le bioéthanol des autres molécules pour obtenir une concentration élevée. Pour isoler un produit plus volatile que l'eau, la distillation est une solution efficace. A la sortie de la colonne de distillation, le bioéthanol est concentré à 37%. Celui-ci est ensuite à nouveau concentré dans une colonne rectifiant à un pourcentage légèrement inférieure à l'azéotrope (95%). D'autres étapes de distillation sont encore réalisées pour atteindre une concentration en bioéthanol de 99,6%. [56]

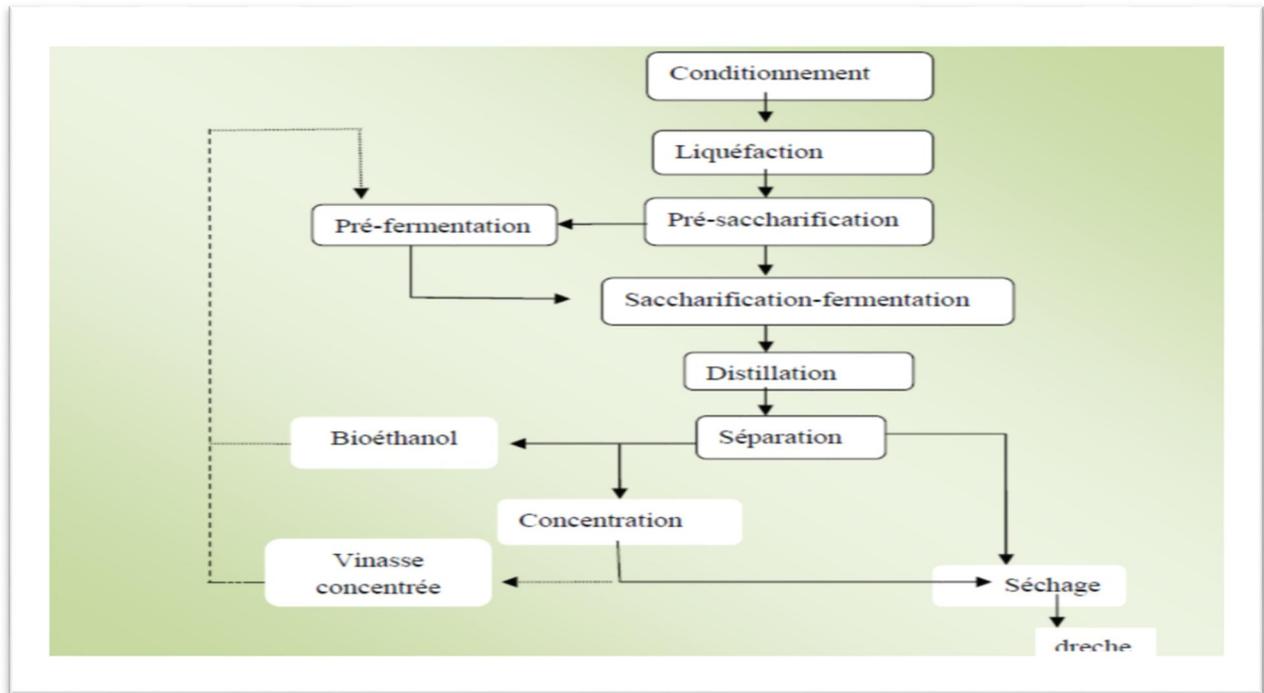


Figure III.4 : Saccharification et fermentation simultanées (SFS) [57]

### III.6.3. Distillation du mélange eau-éthanol (purification)

Le procédé de distillation Figure III.5 est conçu pour la production d'alcool hydraté à 96%, à partir de bière fermentée. Le système se compose de 3 colonnes, à savoir deux colonnes de concentration, et une colonne de rectification. Les deux colonnes de concentration, dont la première opère sous vide, et l'autre en légère surpression, fonctionnent en parallèle. La vapeur d'alcool sortant des colonnes de concentration est alors condensée, puis acheminée, via un préchauffeur, vers la colonne de rectification où l'alcool est concentré jusqu'à 96%.

L'alcool est à nouveau condensé, puis refroidi et enfin stocké dans un réservoir, dans l'attente de son transport vers l'unité de déshydratation. Là on va déshydrater le bioéthanol obtenu (96%) on le faisant passer à travers un tamis moléculaire de (silicoaluminat métallique) pour améliorer son rendement de 96% à 99,9% (éthanol anhydre).

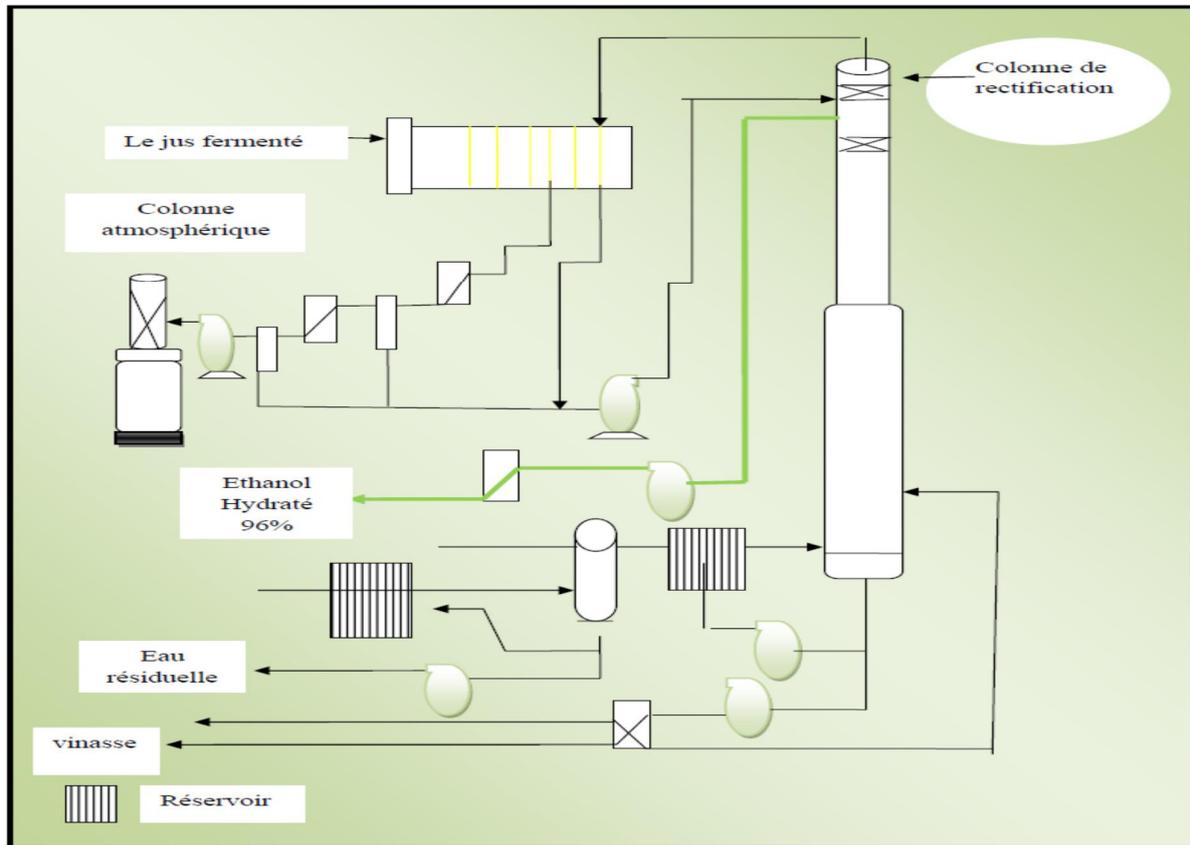


Figure III.5 : Schéma du procédé de distillation-rectification d'un jus fermenté [42].

### III.6.4. Obtention de biomolécules à grande valeur ajoutée

Le saccharose peut être utilisé comme substrat de fermentation pour produire de l'alcool éthylique ou de l'alcool butylique, de la glycérine ou de l'acide citrique. Le saccharose peut également être converti en esters et éthers, desquels on peut extraire des résines dures et solides. La mélasse permet aussi de produire de l'alcool, utilisé comme spiritueux ou en médecine et aussi dans la fabrication de parfums. L'acide lactique est produit par fermentation bactérienne du saccharose. A partir d'acide lactique, il est possible de synthétiser des sels et des esters [58].

## **Chapitre IV:**

# **Etude des protocoles de la fermentation alcoolique de la betterave**

### Chapitre IV : Etude des protocoles de la fermentation alcoolique de la betterave

#### IV.1.Introduction

Dans ce chapitre nous allons faire une synthèse théorique sur la fermentation de la betterave effectuée expérimentalement dans trois travaux scientifiques pour un objectif est commun, c'est l'extraction du bioéthanol.

Le premier travail est réalisé par une étudiante de la spécialité « Génie des Procédés » à l'université de « Annaba » dans le cadre de son mémoire de fin d'étude comme il est mentionné dans la référence [44]. L'objectif de ce travail était l'obtention du bioéthanol par valorisation de la betterave sucrière par le procédé de fermentation anaérobie en utilisant la souche de levures « *Saccharomyces cerevisiae* ».

Le deuxième travail a été effectué pendant des séances de Travaux Pratiques proposée dans le cadre des Olympiades de Chimie à Paris par professeur « Roseline Verpeaux » agrégé de chimie à l'ENCPB comme l'explique la référence [59]. Au cours de laquelle, ils ont effectué des expériences originales en réalisant l'extraction du sucre contenu dans la betterave puis de synthétiser du bioéthanol. Une partie de cette synthèse est expliquée par les travaux de la référence [60] qui sont des travaux de recherche TPE effectués dans un laboratoire de chimie.

Le troisième travail de la référence [61] était effectué en 2015 par une équipe de jeune chercheurs dans le cadre d'un travail TPE au laboratoire Physique-Chimie situé au Lycée « François Villon » Les Mureaux – France,

Nous avons choisi d'étudier l'étape de fermentation pour comprendre le mécanisme et trouver la meilleure solution d'augmentation de la concentration en éthanol dans les milieux en fin de fermentation.

#### IV.2. Protocoles d'extraction de bioéthanol issu de la betterave

Dans ce paragraphe, nous allons expliquer les différentes techniques de fermentation alcoolique utilisées dans les deux travaux cités ci-dessus.

##### IV.2.1. Protocole appliqué dans le premier travail [44]

Ce paragraphe du chapitre IV, présente les méthodes expérimentales et le matériel utilisés dans le projet [44] dont les techniques analytiques nombreuses sont évidemment exposées et

## Chapitre IV : Etude des protocoles de la fermentation alcoolique de la betterave

illustrés par des schémas et protocoles. Les divers produits végétal, biologique et chimique et également les appareils utilisés dans le premier travail [44] sont cités dans le **Tableau IV.1**.

**Tableau IV.1.** Matériels et appareils utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol. [44]

Type de matériels	Matériels
Matériels végétal	Betterave sucrière algérienne de moindre qualité
Matériel biologique (Micro-organisme)	Levure boulangère ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )
Milieu nutritionnel	- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (5 g/L) - MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 g/L) - (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (2 g/L)
Appareils utilisés	- pH-mètre de type Inolab pH 7110 - Spectrophotomètre de type SecomamPrim - Refractomètre de type Atago RX- 5000 - Thermomètre - centrifugeuse 80-2 CENTRIFUGE - Balance de type - Microscope optique DM300, LEICA - plaque chauffante IKAMAG
Réactifs chimiques	- Glucose (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ) - Hydroxyde de sodium (NaOH) - Phénolphtaléine - Chaux (CaCO <sub>3</sub> ) - Acide sulfurique (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) - Acide chlorhydrique (HCl)

### A. Prétraitement de la betterave sucrière

**A.1. Préparation de la levure *Saccharomyces cerevisiae* :** Pour la fermentation, l'étudiante a utilisé l'espèce de levure *Saccharomyces cerevisiae* commercialisée en Algérie. Pour sa croissance et activité dans un milieu humide, les conditions de croissance sont données dans le **Tableau IV.2**.

**Tableau IV.2 :** Conditions de croissance de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. [44]

Paramètres physico-Chimiques	Conditions optimales pour l'activité levurienne
Température	30 °C
Ph	4,5
Type de fermentation	Anaérobie
Sels minéraux	Azote, Potassium, Phosphates, Magnésium
Sucres fermentés	Glucose, saccharose
Sucres non fermentés	Lactose

**A.2. Sélection et préparation de la matière première (Betterave) :** La betterave sucrière (*Beta vulgaris*) est considérée toujours parmi les cultures qui produisent directement du sucre. Elle est largement utilisée pour la fabrication du bioéthanol (mélasse résiduelle/production

industrielle de saccharose). Les quantités élevées de sucre s'accumulent dans la racine tubéreuse de ce légume. Le traitement industriel suivi par l'étudiante se base sur les étapes suivantes :

- ✓ Nettoyage des betteraves
- ✓ Fractionnement en fines tranches (par une rappe),
- ✓ Acheminement dans un diffuseur où elles sont successivement lavées à l'eau chaude et libèrent leur sucre.

Le liquide résultant de cette opération contient environ 16% de solides solubles extraits de la betterave. À partir d'une tonne de tubercules est produit typiquement 86 litres de bioéthanol et 51 kg d'une tourte fibreuse, qui peut être utilisée pour l'alimentation animale.

[62]



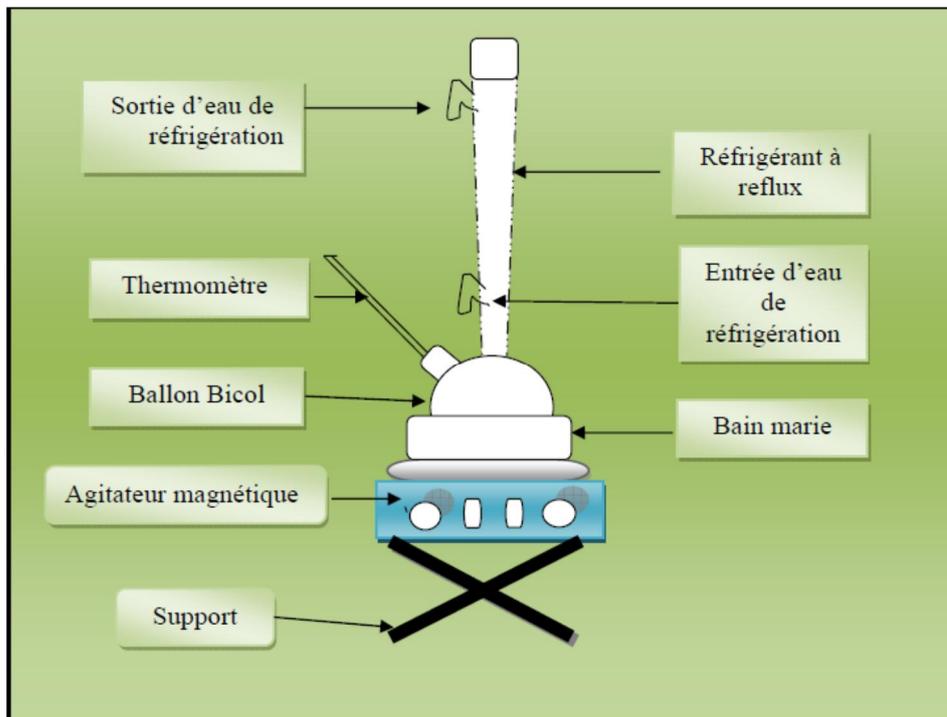
Figure IV.1 : Matière première utilisée par [44], pour la production du bioéthanol.

**A.3. Protocole d'extraction du jus (substrat) :** Pour l'extraction du jus de betterave, l'opération de prétraitement est obligatoire pour rendre les sucres accessibles à la souche « *Saccharomyces cerevisiae* ». Dans le travail effectué par [44], le légume a dû subir un prétraitement incluant les étapes suivantes:

- ✓ Lavage des gosses de betterave afin de les débarrasser de la terre et des herbes ;
- ✓ Râpage de **500g** de betterave sucrière et les mélanger avec **200 ml** d'eau distillée. Cette opération l'ont permet d'augmenter la surface de contact avec l'eau et extraire le maximum de sucre.
- ✓ Placement du mélange dans un ballon de 2 litres muni d'un réfrigérant à reflux ;
- ✓ Dépôt du ballon dans un bain thermostat à une température de **65 °C**.
- ✓ Agitation pendant **30 min** afin de maximiser la diffusion du saccharose ;
- ✓ Décantation dans une ampoule à décanter pendant au moins **7 h**, pour faciliter l'obtention d'un jus plus ou moins limpide ;

- ✓ Filtration sous vide à l'aide d'un Büchner muni d'une trempe à eau ;
- ✓ Hydrolyse de l'extrait avec 250 ml d'acide chlorhydrique de concentration 0,1M ce qui permet de transformer le saccharose en glucose et fructose ;
- ✓ Neutralisation du milieu avec de l'acide chlorhydrique 0,1M jusqu'à l'obtention d'un pH=4,5 ;

La figure IV.2 représente le montage expérimental utilisé dans le premier travail pour l'extraction du jus de betterave.



**Figure IV.2 :** Montage expérimental pour l'extraction du jus de betterave. [44]

**A.4 Prétraitement de la betterave avec chaulage :** Pour augmenter l'efficacité d'extraction du jus de betterave et conduire à une bonne opération de fermentation, les chercheurs du premier travail, ont pensé à l'opération de chaulage qui consiste en une clarification du moût de betterave par épuration calco-carbonique (ajout de  $\text{CaCO}_3$ ) susceptible de précipiter des impuretés. Elles ont donc été tentées d'effectuer cette expérience pour faire une étude comparative entre les résultats du chaulage avec ceux du prétraitement sans chaulage. Ils ont donc suivi la même manière que précédemment, le prétraitement de la betterave est conduit jusqu'au stade de la filtration où, ils ont ajouté 40 ml de  $\text{CaCO}_3$  (10 g/L) au filtrat. Le carbonate de calcium fixe les impuretés et les précipite. Le précipité est alors éliminé par une deuxième opération de filtration qui conduit à un jus de betterave limpide. L'hydrolyse et la neutralisation se font ensuite de la même manière que pour le prétraitement sans chaulage.

### B. Procédé de fermentation éthanolique

Pour qu'une fermentation s'effectue dans de bonnes conditions, le moût extrait de la matière première ne doit pas excéder une concentration en sucres supérieure à **300 g/L**. La concentration initiale en sucres fermentescibles est très importante car elle conditionne le taux d'alcool en fin de fermentation [63]. Aussi, le milieu doit être supplémenté de sels minéraux pour assurer un métabolisme optimal pour les levures.

La fermentation effectuée dans le premier travail est conduite en anaérobiose pendant 72 heures. Toutefois, cette opération est favorisée par une agitation due au mouvement des bulles du CO<sub>2</sub> dégagé. Le suivi cinétique de croissance des levures a été fait par l'identification des phases de latence, exponentielle et ralentissement.

Pour suivre l'évolution de la fermentation, l'étudiante a pris des mesures de la concentration de CO<sub>2</sub> et a effectuées des analyses physico-chimiques et biochimiques tels que:

- L'acidité du moût à l'aide d'un pH mètre ;
- Le taux de glucose ;
- L'évolution de la couleur et de l'odeur du moût ;
- La densité du milieu ;

### C. Protocole de la fermentation alcoolique

L'expérience de la fermentation des jus de betterave a été réalisée par l'étudiante dans un bioréacteur d'une capacité de 500 ml en mode discontinu en assurant l'agitation magnétique du liquide bien sûr pour favoriser l'oxygénation du milieu. La température du bain thermostat a été maintenue à une valeur de  $30 \pm 2$  °C. Un volume de 500 ml de jus ayant un pH de 4,5 était légèrement chauffé et placé dans le fermenteur. Les éléments nutritifs indiqués dans le **Tableau IV.1** nécessaires à la croissance des micro-organismes sont ajoutés au milieu. Une masse de 2 g de levures est alors versée dans le réacteur qu'il faut rapidement fermer à l'aide d'un bouchon hermétique afin d'assurer les conditions anaérobiques. La fermentation a été commencée une fois que le dégagement de CO<sub>2</sub> est observé.

L'étudiante a mesuré alors quantité du CO<sub>2</sub> dégagé par la méthode de déplacement de liquide. Le temps de fermentation est fixé à 72 h au bout duquel l'opération de distillation du mélange fermenté est élaborée afin de récupérer le bioéthanol. La figure IV.3 expose le dispositif expérimental utilisé pour la fermentation alcoolique.

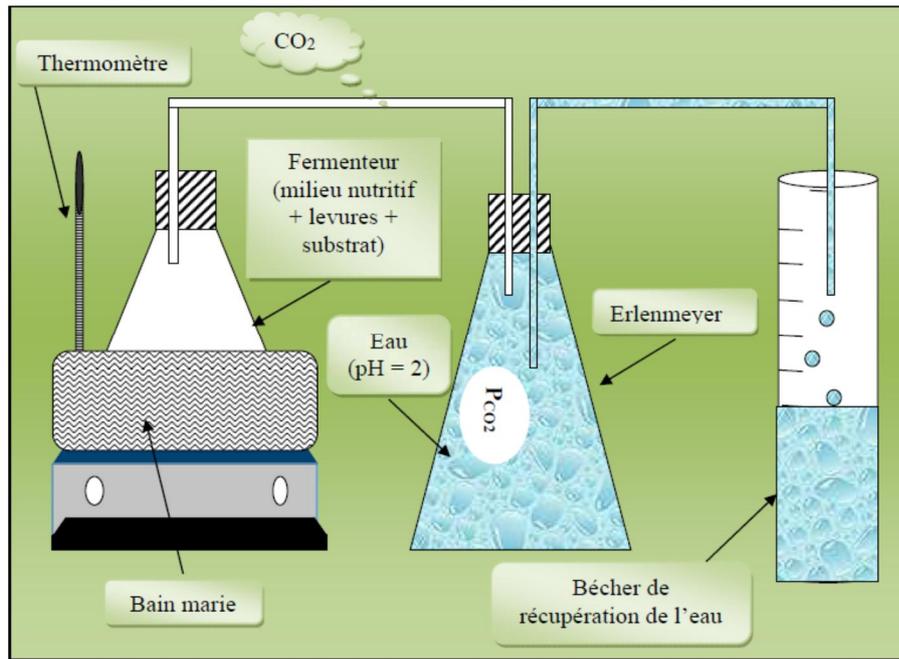


Figure IV.3 : Dispositif expérimental utilisé pour la fermentation alcoolique. [44]

### D. Distillation du mélange pour récupération du bioéthanol

Après 72 h de fermentation, le vin de betterave obtenu est distillé afin d'extraire l'éthanol. La température de distillation est de l'ordre de 78 °C. La distillation est effectuée dans un montage classique comportant un chauffe-ballon, des colonnes de réfrigération et une ampoule de récupération de distillat (éthanol).

### E. Caractérisation physicochimique des jus de betteraves avant fermentation

Dans la première étude, les betteraves sont servies de matière première pour la production de bioéthanol par fermentation alcoolique. Les betteraves utilisées ont été cultivées en Algérie. Elles sont considérées comme un produit de l'agriculture modérément consommé par la population. Elles sont de moindre qualité pour pouvoir être prises comme étant des résidus de l'agriculture.

Les betteraves doivent subir après prétraitement, un jus de betterave a été extrait pour l'utiliser comme substrat dans l'opération de fermentation. Pour la caractérisation, elle a été utilisée trois valeurs de Brix différentes de jus :

- 1<sup>er</sup> jus : Jus de betterave concentré, Brix = 4,8
- 2<sup>ème</sup> jus : jus de betterave dilué deux fois, Brix = 2,2
- 3<sup>ème</sup> jus : jus de betterave chaulé, Brix = 3,1

Les résultats de mesure de certaines propriétés physicochimiques des trois jus sont mentionnés dans le **Tableau IV.3**.

**Tableau IV.3 :** Caractéristiques physicochimiques des jus de betterave avant fermentation.

	Jus de betterave		
<b>Paramètre</b>	Brix = 4,8	Brix = 3,1	Brix = 2,2
<b>PH à 20 °C</b>	4,18	6,66	4,29
<b>Densité à 20 °C</b>	1,01	1,05	0,99
<b>Indice de réfraction à 18 °C</b>	1,3400	1,3374	1,3361
<b>Concentration en glucose (mg/L)</b>	47,14	30,07	17,21
<b>Couleur</b>	Rouge foncé	Rouge très clair	Rouge clair

En remarquant bien le tableau qui collecte les résultats des analyses, on constate que :

- ✓ Les jus de betteraves concentré et dilué ont des valeurs de pH acide ( $\approx 4,2$ ). Cependant, le pH du jus de betterave chaulé est proche de la neutralité; ceci est dû au carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) ajouté lors de l'opération de chaulage. La densité à 18 °C des jus extraits est de l'ordre de l'unité (voisine de celle de l'eau); celle du jus dilué est légèrement plus faible que les deux autres et ceci est évidemment dû à la dilution effectuée.
- ✓ La quantité de glucose dans le jus de betterave concentrée est plus grande que celle dans le jus dilué. Aussi, l'opération de chaulage fait probablement perdre un peu de sucre au jus ce qui est constaté dans la concentration de glucose qui est de 30,07 mg/L.
- ✓ Enfin, le jus de betteraves un jus sirupeux plus ou moins visqueux ; il apparait de couleur rouge qui s'éclaircit légèrement dans le cas où l'extraction s'accompagne de l'opération de chaulage. Cette dernière élimine certaines impuretés et pigments qui contribuent sûrement à la coloration des jus de betterave. [44]

## F. Fermentation alcoolique

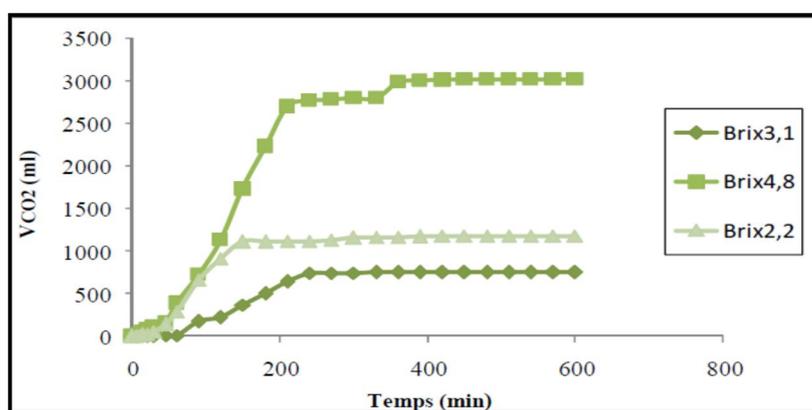
**F.1. Aspect morphologique et croissance de la souche de levures :** La souche de levure *S. cerevisiae* utilisée dans l'opération de fermentation a été observée au microscope optique. L'étudiante a remarqué que les cellules sont arrondies, plus ou moins ovalaires. Elles ont la forme d'un ellipsoïde de révolution dont le grand axe atteint une longueur variant entre 5 et 8  $\mu\text{m}$ .

**F.2. Déroulement de la fermentation :** Le temps de fermentation a été fixé à trois jours. L'étudiante a commencé la surveillance du dégagement de  $\text{CO}_2$ , et la formation d'une mousse au début de l'opération qui sont des indicateurs du bon déroulement de l'opération. La mousse a commencé à s'atténuer un jour après le début de la fermentation et les levures ont tendance à s'accumuler au fond du réacteur. L'étudiante a pensé qu'à ce stade, la croissance ainsi que le métabolisme des microorganismes diminue légèrement. Au bout du troisième jour, elle a

constaté la formation d'un surnageant dans le jus qui à première vue, représente un milieu défavorable pour la culture de la levure par ce qu'il peut contenir des éléments et composés toxiques tels que les acides gras, l'acide acétique, l'éthanol, etc.

**F.3. Contrôle de la croissance de *S. cerevisiae* :** La croissance des levures est suivie par mesure de la pression de CO<sub>2</sub> dégagé au cours de la fermentation, la méthode utilisée est celle du déplacement de liquide. **La figure IV.4**, montre les courbes de croissance de *S. cerevisiae* en présence du jus de betterave. Ces courbes de croissance dans les différentes valeurs de jus de betteraves étaient exprimées par la variation du volume de CO<sub>2</sub> en fonction du temps. Suivant la **Figure IV.4**, on remarque que les courbes montrent trois phases distinctes :

- ✓ La phase de latence (la durée est de 30 min). Elle est considérée comme une période d'adaptation des microorganismes au milieu. Elle dépend, en général, de la nature du substrat.
- ✓ La phase exponentielle avec une durée moyenne de 150 à 200 min. Là, où ils ont observé une grande augmentation de CO<sub>2</sub> dégagé. Cette phase dépendant fortement de la nature du substrat (et donc du Brix) correspond à la phase la plus importante de la croissance des levures.
- ✓ La phase de ralentissement (ou phase stationnaire) pendant laquelle, le volume du CO<sub>2</sub> est pratiquement constant. Pendant cette phase, l'essentiel du sucre est fermenté et les levures ne se multiplient plus. Cette baisse d'activité est à la fois due à l'épuisement des nutriments et à l'accumulation de déchets comme elle a expliqué l'étudiante en se basant sur les résultats du [64].



**Figure IV.4 :** Courbes de croissance de *S. cerevisiae* pour les jus de betterave à différentes valeurs de Brix. [44]

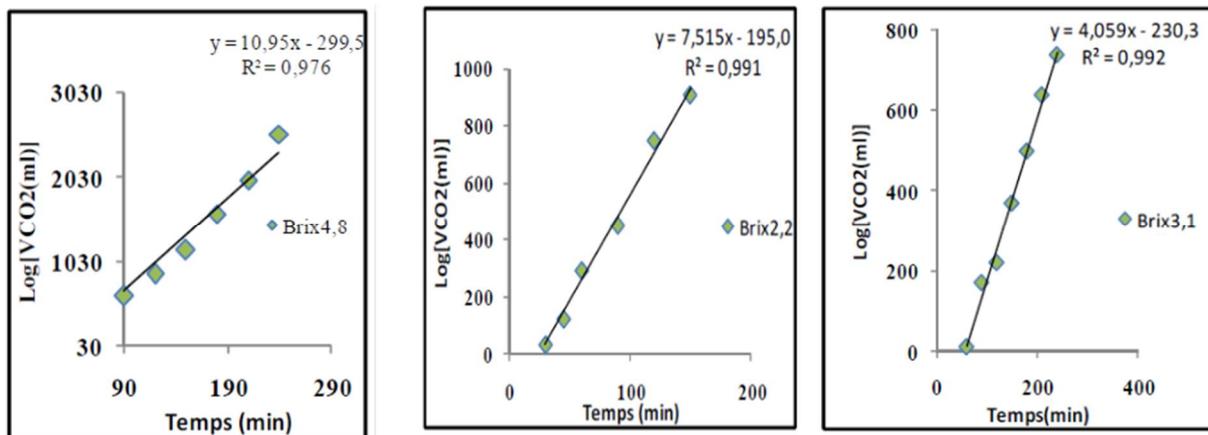
**F.4. Calcul des paramètres de croissance :** Les paramètres de croissance déterminés par l'étudiante suite aux différentes manipulations sont :

- La vitesse maximale de croissance ( $U_{max}$ ) qui mesure l'accroissement de la population microbienne au cours de la phase exponentielle.  $U_{max}$  est égale à la pente de la droite représentant la fonction  $f(t) = \text{Log}V_{CO_2}$ .
- Le temps de génération ( $t_{1/2}$ ).

Les courbes donnant cette fonction pour les trois valeurs de jus de betteraves testés dans le premier travail sont illustrées sur la **Figure IV.5**. Nous remarquons que les trois courbes sont linéaires avec des coefficients de détermination proches de l'unité. Donc, une fois les vitesses  $U_{max}$  calculées, le temps de génération (ou temps de doublement de la biomasse. Les paramètres de croissance calculés sont résumés par l'étudiante dans le **Tableau IV.4**.

**Tableau IV.4 :** Détermination des paramètres de croissance de *S. cerevisiae* pour les Différents valeurs.

Nature du substrat	$U_{max}$ (min-1)	R2 (/)	$t_{1/2}$ (min)
Jus de betteraves concentré	10,95	0,976	0,06
Jus de betteraves dilué	7,52	0,991	0,09
Jus de betteraves chaulé	4,06	0,992	0,17



**Figure IV.5 :** Modélisation de la phase de croissance exponentielle pour *S. cerevisiae*- Détermination des vitesses de croissance maximale pour les différentes valeurs.

### G. Caractérisation physicochimique et biochimique des produits de fermentation

Afin d'avoir une première vision sur les produits de fermentation après l'opération de fermentation, certaines analyses ont été effectuées par l'étudiante sur le milieu (liquide + levures). Plus des paramètres de caractérisation sont présentés, plus ils ont pu analyser les matières sèches et la densité cellulaire révélatrices de la plus ou moins bonne croissance des microorganismes.

**G.1. Produits de fermentation en présence des jus de betteraves :** Les trois jus de betteraves sont ceux utilisés dans l'opération de fermentation ayant pour Brix les valeurs 4,8 ; 3,1 et 2,2. Les résultats des analyses sont résumés dans le **Tableau IV.5**.

**Tableau IV.5 :**Caractéristiques physicochimiques et biochimiques des produits de fermentation en présence des jus de betteraves. [44]

Paramètre physicochimique	Jus concentré	Jus chaulé	Jus dilué
pH à 20 °C	3,54	4,06	3,7
Densité à 20 °C	0,99	1,04	0,97
Indice de réfraction à 18 °C	1,3355	1,3368	1,3352
Couleur	Rouge foncé	Rouge très clair	Rouge clair
Brix	1,8	2,4	1,5
Concentration en glucose (g/L)	21,93	19,57	5,14
Matière sèches (g/L)	6,7	2,5	4,9
Densité cellulaire (kcell/uL)	6,7	5,6	6

Les résultats sont rédigés par les chercheurs comme suit [3, 44]:

- Une petite variation dans le pH a été enregistrée ; le pH initial a été pris égal à 4,5 (valeur optimale pour le développement de *S. cerevisiae*) comme il est expliqué dans [65]. Il était légèrement diminué suite à la formation de certains acides gras (acide octanoïque, acide de canoïque, acide citrique, ...) éventuellement d'autres produits du métabolisme des levures pendant la fermentation [63].

- La densité du liquide est proche de l'unité (0,97-1,04) ; à ce stade, étant donné que le liquide issu de la fermentation est un mélange de plusieurs composés (produits du métabolisme de *S. cerevisiae*), cette grandeur n'apporte que peu à la caractérisation des produits de la fermentation.

- La coloration du liquide restant rouge même après fermentation du jus de betteraves est révélatrice de la présence des pigments rouges initialement présents dans les résidus du

## Chapitre IV : Etude des protocoles de la fermentation alcoolique de la betterave

légume. L'opération de chaulage devrait faire disparaître tous les pigments, la couleur rouge a quand même persisté mais avec une intensité moindre.

- Le degré Brix mesurant la teneur en saccharose a diminué surtout dans le jus de betteraves concentré. Ceci est dû à sa conversion au cours de l'opération d'hydrolyse.
- Les quantités restant dans le substrat n'ont pas pu être consommées par les levures étant donné qu'il s'agit de sucres non simples. Une hydrolyse optimale (à rechercher) mènerait à une conversion maximale et une consommation plus grande.
- Un des paramètres indicateurs du bon développement des microorganismes est les matières sèches qui représentent la concentration de la biomasse des levures. Les valeurs des analyses montrent bien que le jus de betteraves concentré conduit à la plus grande concentration en matières sèches.
- La densité cellulaire représente la concentration de cellules vivantes de levures dans le milieu de fermentation. La mesure de l'absorbance à 600 nm révèle la présence de plus de cellules de *S. cerevisiae* dans le bioréacteur alimenté en jus de betteraves concentré.

**G.2. Caractérisation du bioéthanol obtenu par fermentation alcoolique :** Suite aux déclarations de l'étudiante, l'objectif de son travail était la mise en œuvre d'un procédé de fermentation en vue de produire du bioéthanol à partir de différents valeurs de betterave des résidus d'agriculture. Après avoir interprété et discuté les étapes antérieures à la séparation de cet alcool (prétraitements, suivi de la croissance des levures et caractérisations des produits de fermentation), il est important d'isoler le bioéthanol et de le caractériser. Une distillation du produit de fermentation a été effectuée sur une solution de 400 ml à la température de 79 °C.

Vu les moyens d'analyses mis à leur disposition et le manque constaté au niveau du gros matériel nécessaire à caractériser leur produit (HPLC par exemple), Elles ont contentées de caractériser leur bioéthanol en mesurant sa densité à 20 °C, sa concentration approximative dans la solution et son aptitude à produire une flamme.

Le **Tableau IV.6** montre les résultats de ces analyses sur le bioéthanol obtenu à partir des trois valeurs Sélectionnés.

**Tableau IV.6 :**Caractérisation du bioéthanol obtenu par distillation du jus de betterave. [44]

Substrat	Densité (/)	Volume (ml)	Concentration (g/L)	Odeur	Couleur
Jus de betteraves concentré	0,86	17	36,5	Odeur d'alcool piquante	Liquide Incolore
Jus de betteraves dilué	0,85	14,5	30,8		
Jus de betteraves chaulé	0,88	8	17,6		

La première remarque qu'elle a faite est que le bioéthanol obtenu dans les trois valeurs a une densité comprise entre 0,85 et 0,88 qui sont très proches de la valeur de l'éthanol donnée dans la littérature. De plus, leur produit a réellement une odeur d'alcool piquante et est très inflammable. Pour les échantillons d'alcool, la flamme est très intense, durable et rappelle celle qu'on obtient avec de l'essence.

### **IV.3. Protocole d'extraction du bioéthanol de betterave réalisé par [59-60]**

En prenant en compte les protocoles appliqués par [59-60] qui concerne l'extraction, le professeur chargé des travaux pratiques et les stagiaires du TPE ont suivi les étapes expliquées en détail dans les paragraphes suivantes.

#### **IV.3.1. Essais N° 1 réalisé par [59]**

Les étapes de ce protocole sont représentées par la figure IV.6. Elles sont expliquées en détail dans le paragraphe ci-dessous.

##### **A. L'extraction du sucre**

Ils ont coupé 50 g de betterave à sucre en fins morceaux et les placer avec 100 ml d'eau distillée dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux.

- Chauffer 30 minutes ;
- Filtrer sur papier pour éliminer les morceaux de betterave ;
- Ajouter lentement au filtrat 10 ml d'une solution de  $\text{CaCO}_3$  (10 g.L<sup>-1</sup>), ce qui permet de précipiter une partie des impuretés (chaulage du jus) ;
- Filtrer ensuite sous vide en utilisant un Büchner et l'on récupère un jus sucré clair ;
- Obtention d'une solution de saccharose après filtration ;

##### **B. Mesure de la teneur en sucre**

L'indice de réfraction d'une solution sucrée varie en fonction de son titre massique  $m$  (ou  $w$ ). Cette mesure d'indice permet de mesurer le brix du sucre (taux massique en sucre). Certains réfractomètres sont gradués directement en brix.

##### **C. Fermentation alcoolique**

Ils ont effectué les expériences suivantes :

- Introduction de 100 ml d'eau distillée prélevé à l'éprouvette dans un bécher de 250 ml.

## Chapitre IV : Etude des protocoles de la fermentation alcoolique de la betterave

- Emietter 5 g de levure de boulanger et mélanger soigneusement avec une baguette de verre jusqu'à ce qu'il ne reste plus de grumeaux ;
- Ajouter 5 g de sucre en poudre (saccharose :  $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) ;
- Mélanger jusqu'à dissolution ;
- Bien mélanger le tout et verser dans une bouteille de 250 ml ;
- Découper l'embout de gonflage d'un ballon de baudruche pour réaliser un adaptateur entre le goulot de la bouteille et la cartouche d'un test d'alcoolémie ;
- Avec une épingle à nourrice, percer deux ou trois petits trous à travers le réactif de la cartouche pour faciliter le passage des gaz ;
- Placer le raccord de baudruche d'un côté sur le goulot de la bouteille et de l'autre côté sur la cartouche enfoncée dans le ballon du test selon son mode d'emploi ;
- Etanchéifier ce raccord du côté de la bouteille et du côté de la cartouche avec du ruban adhésif ;
- Laisser la manipulation évoluer en agitant de temps en temps pour empêcher la sédimentation des levures et laisser le ballon se gonfler.



(a)

(b)

(c)

(d)

**Figure IV.6 :** Etapes de la fermentation. [59]

(a) Démarrage ; (b) Effervescence est visible ; (c) Alcotest mis en évidence des traces d'éthanol ; (d) Gaz du ballon trouble l'eau de chaux.

### IV.3.2 Essais N° 2 réalisé par [60]

Les étapes de ce protocole sont expliquées en détail dans le paragraphe ci-dessous.

**Tableau IV.7 :** Réactifs chimiques et Matériels utilisés par [60] pour l'élaboration du procédé de production

<b>Réactifs chimiques</b>	<b>Liqueur de Fehling ; Les ions permanganate <math>MnO_4^{2-}</math> ; Acide sulfurique Chaux (<math>CaCO_3</math>) ; Glucose (<math>C_6H_{12}O_6</math>) ; méthanol (<math>CH_3OH</math>)</b>
<b>Appareils utilisés</b>	Un épluche légume, Un broyeur de cuisine, erlenmeyer, bouchon muni d'un tuyau à dégagement béchers ; tubes à essai ; plaque chauffante ; pincés en bois ; bec bunsen ; bain marie ; tubes à essai ; pipette simple ; gants et lunettes ; chauffe ballon ; colonne de Vigreux ; thermomètre ; réfrigérant à eau ; tuyaux ; un support élévateur ; potences.

#### **A. Obtention d'un moût sucré issu de la betterave sucrière**

**A.1. Enlever les feuilles en sectionnant au niveau du collet :** c'est dans les feuilles de la betterave que le glucose est synthétisé par photosynthèse, mais la sève le ramène vers la racine où il est stocké. C'est pourquoi ils ont intéressé uniquement à la racine.

**A.2. Lavage de la betterave :** lors de la récolte de leurs matière première qui est les betteraves, beaucoup de terre est restée collée. Lors de leur 1<sup>er</sup> essai, ils pensaient que cela suffirait mais même en épluchant la betterave, des "petits morceaux" de terre s'ajoutaient à leur solution de betterave broyée à chaque fois qu'ils ajoutent des morceaux de betteraves. Ces "morceaux" de terre allaient contaminer leur mixture car la terre contient des éléments minéraux, des éléments organiques ou encore des micro-organismes favorisant le développement de moisissures. Donc, ils étaient obligés de laver les betteraves.

**A.3. Eplucher la betterave :** Ils permettent d'enlever les derniers résidus encore présents sur la peau de la betterave. Certains ils demanderont: "Est-ce bien utile de laver la betterave si on l'épluche après ? Dans leur cas oui, car il y a toujours ce risque de contaminer leurs future mixture avec des éléments indésirables.

**A.4. Découper la betterave en fines lamelles (cossettes) :** dans la fabrication de bioéthanol à partir de betteraves, ils ont découpé la betterave en cossettes, pour extraire le sucre par diffusion en faisant chauffer les cossettes dans de l'eau (voir Figure IV.7).



Figure IV.7 : Découpe la betterave en cossettes. [60]

**A.5. Broyer les cossettes avec un peu d'eau :** pour cette étape, les stagiaires ont été mesuré la masse de betterave et le volume d'eau qu'ils ont introduises dans la mixture. Cela eux permettras de trouver le rendement recherché. Ils ont été utilisé 2 erlenmeyers: Un premier où Ils sont donnés **330g de betterave et 250ml d'eau** et un second avec **200g de betterave et 350 ml d'eau**. Ils ont veillé à ce que la mixture soit assez liquide.(voir Figure IV.8)

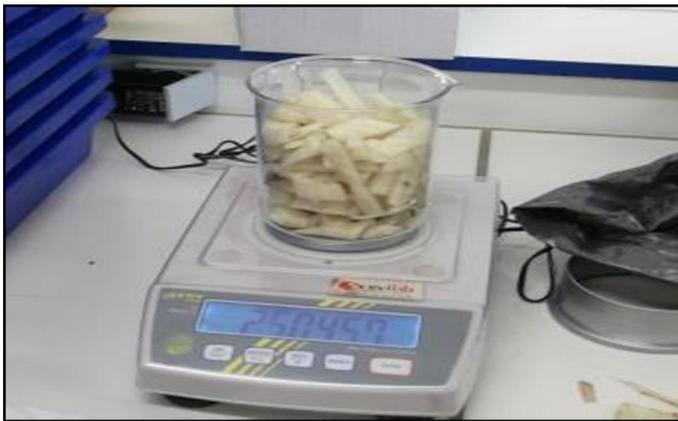


Figure IV.8 : Broyer les cossettes. [60]

## B. Fermentation alcoolique

Dans leur travail, ils ont basé sur la notion que le sucre ou saccharose, de formule brute  $C_{12}H_{22}O_{11}$  est extrait directement de la betterave sucrière. La première manipulation l'ont permettre d'extraire le sucre de la betterave et de mesurer le pourcentage de saccharose de la betterave (teneur en sucre). La seconde manipulation consiste en la fermentation alcoolique de ce sucre afin d'obtenir le bioéthanol.

### B.1. Introduire le moût et de la levure dans un erlenmeyer

L'erenmeyer utilisé doit être adapté au volume de mixture car il doit être assez grand pour la contenir mais le mélange doit quasiment arriver jusqu'au col (il ne doit pas rester d'air quand on le bouche). Les chercheurs ont la possibilité de mettre de la levure de bière ou levure de boulanger pour accélérer le processus de fermentation. En Mettent **5g** de levure de boulanger pour un bécher de **500ml** entièrement rempli. L'ajout de levures n'est pas obligatoire mais elles permettent un meilleur rendement de la production d'éthanol lors de la fermentation. La levure de boulanger: *Saccharomyces cerevisiae* est une levure très facile à trouver (supermarchés, boulangers,...) et qui résiste à une teneur en éthanol assez élevée dans la solution.

**B.2. Boucher l'erenmeyer avec un bouchon muni d'un tuyau à dégagement :** La fermentation est un métabolisme qui doit se produire dans un milieu anaérobie. Cependant et comme le montre la figure IV.9, ils ont laissé un petit peu d'air entre le haut de mixture et du bouchon, ce qui favorise le développement et donc la résistance des souches de levures/bactéries.



**Figure IV.9 :** Bouchon muni d'un tuyau à dégagement.[60]

**B.3 Plonger le tuyau dans un bécher rempli d'eau de chaux :** ils ont remplis le bécher avec de l'eau normale, ce qui de même permettra au  $\text{CO}_2$  de la fermentation de s'échapper tout en empêchant la rentrée d'air à l'intérieur. Ils ont choisi de le remplir avec de l'eau de chaux de façon à mettre en évidence le dégagement de  $\text{CO}_2$  par la fermentation. L'eau de chaux a pour propriété de se troubler en présence de  $\text{CO}_2$ , ils ont donc mettre de l'eau de chaux dans le bécher pour prouver que la réaction qui se passe dans leur erlenmeyer est bien une fermentation, que l'on peut identifier grâce au rejet de  $\text{CO}_2$ . (voir figure IV.10)



**Figure IV.10** : Identification du rejet de CO<sub>2</sub>. [60]

Après 2 semaines de fermentation (le temps de fermentation est à adapter en fonction de la quantité de moût à fermenter), ils ont estimé que la fermentation est terminée, autrement dit que tout le glucose a été consommé par fermentation éthylique pour donner de l'éthanol. Il est que la liqueur de Fehling (bleue) a pour propriété de devenir rouge orangé (rouge brique) en présence de glucose. Ils ont prélevé alors dans un premier tube à essai leur mixture avant la fermentation, et dans un second tube, la solution obtenue après fermentation. Ils ont ajouté dans chacun de ces tubes quelques gouttes de Liqueur de Fehling, puis ils ont fait chauffer ces tubes au bain marie ou au bec bensen pendant quelques secondes (en agitant les tubes) (**voir figure IV.11**). Ils ont observé en effet que le premier tube contenant la mixture avant fermentation devient de couleur orangée tandis que le second contenant la solution fermentée ne change pas de couleur. Ils ont en déduit que la mixture avant fermentation contient du glucose, qui par fermentation, donne une autre espèce. Ce test ne permet pas encore de prouver que l'espèce obtenue est de l'éthanol, ceci nécessite une autre expérience.



Figure IV .11 : Plaque chauffante pour chauffer nos tubes. [60]

### C. Identification de l'éthanol

Ils vont procéder à l'oxydation de l'éthanol qui est un alcool primaire. Ils ont effectué leur expérience avec une solution de permanganate de potassium. Il y a deux façons de procéder: Quand l'oxydant est en défaut, et quand il est en excès. Ils ont décidé d'effectuer les deux expériences.

**C.1.Oxydant en défaut:** En effet, les ions permanganate  $MnO_4^{2-}$  se décolorent en présence d'un alcool primaire dans une solution. Dans un tube à essai contenant leur solution fermentée, ils ont versé quelques gouttes d'une solution acidifiée de permanganate de potassium de couleur violette. Ils ont observé une décoloration immédiate de la solution de permanganate comme le montre la figure IV.12.



Figure. IV.12 : Ajouter réactif de permanganate de potassium. [60]

**C.2. Oxydant en excès:** Dans un tube à essai contenant une solution acidifiée de permanganate de potassium, ils ont versé quelques gouttes de leur solution fermentée. Comme le montre la figure IV.13, ils ont observé que peu à peu, la solution de permanganate de potassium se décolore et devient de couleur jaune.



**Figure IV.13 :** Résultat après manipulation. [60]

### D. Purification

A la fin de l'essai n°2, les jeunes chercheurs ont obtenus un jus de fermentation contenant de l'éthanol. Cependant ce jus contient encore en grande partie de l'eau, ils cherchent alors à purifier au maximum cet éthanol en éliminant le plus possible d'eau. La température d'ébullition de l'eau (100°C) et celle de l'éthanol (78°C) sont différentes, de plus, ce jus ne contient pas seulement de l'eau et de l'éthanol, ils ont donc procédé à une distillation fractionnée montré par la figure IV.14. Ce procédé s'appuie sur les différences de températures d'ébullition des différents constituants du mélange.

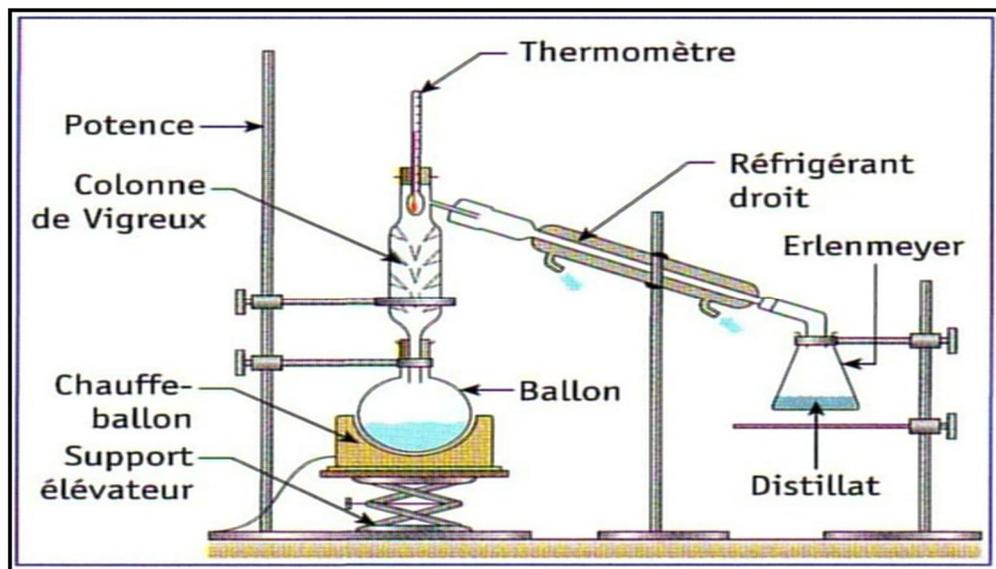


Figure IV.14 : Un montage de distillation fractionnée. [60]

**D.1 Monter la température progressivement** jusqu'à un premier pallié de température égal à 65°C. En effet, leur jus ne contient pas que de l'eau et de l'éthanol, mais aussi du méthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) dont la température d'ébullition est de 64,7°C. Garder cette température pendant quelques minutes afin de récupérer le maximum de méthanol qui sera leur premier distillat.

**D.2 Monter désormais la température jusqu'à 79°C**, toujours de façon progressive et en gardant toujours un œil sur le thermomètre pour ne pas être surpris par la montée de température. En effet, si on dépasse les 79°C ils vont récupérer d'autres constituants indésirables. Garder cette température pendant plus d'1 heure (temps à déterminer en fonction de la quantité de solution à distiller). Ils ont obtenu alors dans un second béccher leur éthanol. Ils ont dû répéter cette dernière étape plusieurs fois en remettant leur distillat obtenu dans un nouveau ballon, afin d'obtenir de l'éthanol le plus pur possible.

### E. propriété d'éthanol obtenu

A ce stade, les élevés cherchent à ce que leur éthanol possède les mêmes propriétés qu'un carburant classique. Leur caractéristique principale est leur capacité à s'enflammer par rapport à sa combustion.

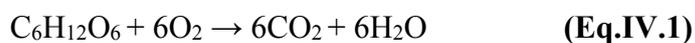
**D.1. Capacité de leur éthanol s'enflammer :** ils ont versé le distillat obtenu après plusieurs distillations dans une coupelle ou un verre de montre, puis mette-y le feu à l'aide d'une

allumette ou d'un briquet. Comme le montre la figure IV.15, ils ont observé que leur éthanol s'enflamme, il possède donc la caractéristique principale d'un carburant. Mais cela fait-il de l'éthanol une réelle alternative aux carburants classiques.



**Figure IV.15** : Flamme obtenu par [60] après la combustion du bioéthanol.

**D.2. Comment obtenir un meilleur résultat** : A partir d'un erlenmeyer où ils ont introduit 200g de betterave ainsi que 350ml d'eau, ils n'ont obtenu que quelques millilitres d'éthanol. Dans des conditions industrielles: 1t de betteraves = 140kg de sucre = 90 à 100l d'éthanol. L'idéal aurait été de réaliser peu de temps après l'arrachage de la betterave car une fois arrachée, la betterave continue de respirer et perd de sa teneur en sucre: jusqu'à 200g par tonne par jour. En effet, le métabolisme respiratoire d'une plante consomme du glucose [60].



Glucose + dioxygène → dioxyde de carbone + eau

### IV.4. Protocole d'extraction du bioéthanol de betterave utilisé par [61]

Dans le travail référencé par [61], ils ont respecté le même protocole effectués dans les autres projets, la différence concerne seulement quelques détail tels que le poids de la matière première et le volume d'eau distillé utilisé. Les étapes du protocole sont citées dans le paragraphe ci-dessous.

#### IV.4.1 Extraction du sucre présent dans une betterave sucrière

Pour produire du bioéthanol, il faut réaliser une fermentation alcoolique à partir d'un jus sucré. Dans les expériences réalisées par [61], ils ont extrait le sucre des betteraves sucrières présent dans les vacuoles des cellules, pour cela ils ont procédé à une infusion. La

## Chapitre IV : Etude des protocoles de la fermentation alcoolique de la betterave

---

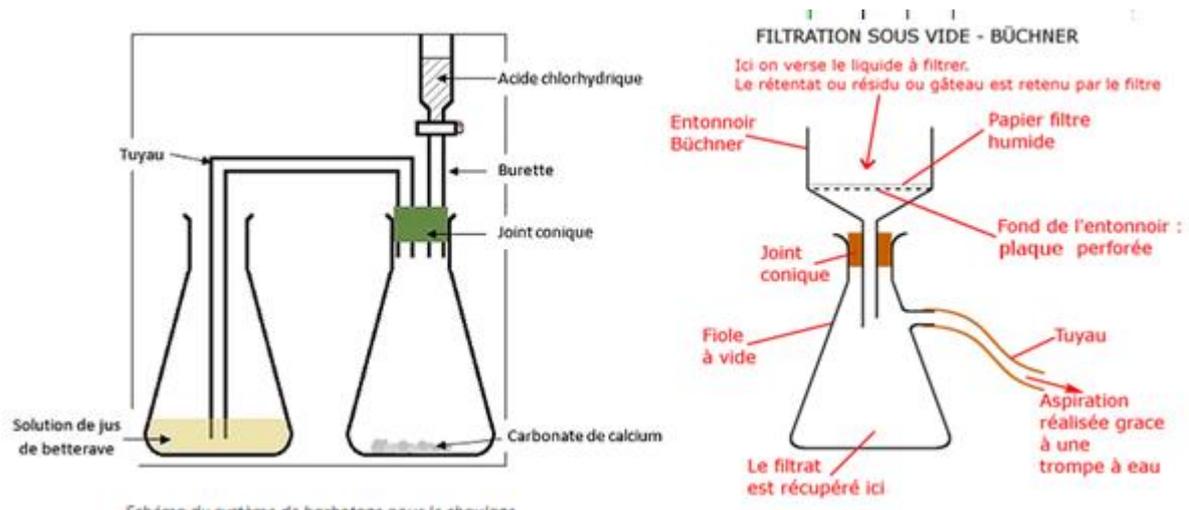
chaleur permet de dénaturer les vacuoles et le sucre peut alors se répandre hors des cellules. Pour cette partie ils ont utilisé le matériel suivant :

Erlenmeyer de 500 ml ; éprouvette graduée ; plaque chauffante avec agitateur magnétique ; barreau aimanté ; mixeur ; betterave ; balance ; 150 grammes de betterave sucrière à infuser ; 300 millilitres d'eau distillée. Ils ont suivi les étapes indiqués dans le mode opératoire suivant :

- Peser **150g** de betterave et les mixer grossièrement
- Mettre la betterave dans l'Erlenmeyer et ajouter **300ml** d'eau distillée
- Mettre à chauffer sur la plaque chauffante tournante tout en mettant à agiter grâce à l'agitateur magnétique à environ 100 degrés pendant 30 minutes.
- Le résultat attendu est un jus de betterave sucré.
- L'opération a été effectuée 3 fois pour produire une plus grande quantité d'éthanol.

### IV.4.2. Purification du jus de betterave obtenu

Pour purifier la solution de jus sucré précédemment obtenue, un des moyens est de procéder à un chaulage : il s'agit d'ajouter de l'oxyde de calcium, ou chaux vive, dans la solution à purifier, puis d'y faire barboter du dioxyde de carbone. Cela a pour effet de précipiter les impuretés et de les fixer, pour enfin les éliminer avec une filtration, ici sur Büchner pour accélérer le processus. Le dioxyde de carbone est obtenu en versant de l'acide chlorhydrique sur du carbonate de calcium (craie). Comme le montre la Figure IV.16, ils ont eu besoin du matériel suivant : Jus précédemment obtenu ; Système de barbotage ; Système de filtration sous vide ; Papier filtre ; Carbonate de calcium ; Acide chlorhydrique ; Oxyde de calcium ; Agitateur en verre.



**Figure IV.16 :** Schéma du système de barbotage pour le chaulage + schéma de filtration avec Bücher. [61]

Le mode opératoire qu'ils ont utilisé est le suivant :

- ✓ Filtration rapidement sur papier filtre du jus de betterave pour le séparer des plus gros morceaux.
- ✓ Ajout de 10 mL d'oxyde de calcium au filtrat et agiter le mélange obtenu.
- ✓ Versement de quelques gouttes d'acide chlorhydrique sur le carbonate de calcium : il y a alors formation de dioxyde de carbone.
- ✓ Barbotassions de dioxyde de carbone dans le mélange de jus de betterave et d'oxyde de calcium pendant environ 10 minutes.
- ✓ Filtration sur Büchner le mélange obtenu.
- ✓ Le résultat attendu est un jus de betterave débarrassé de toute impureté.



(a)

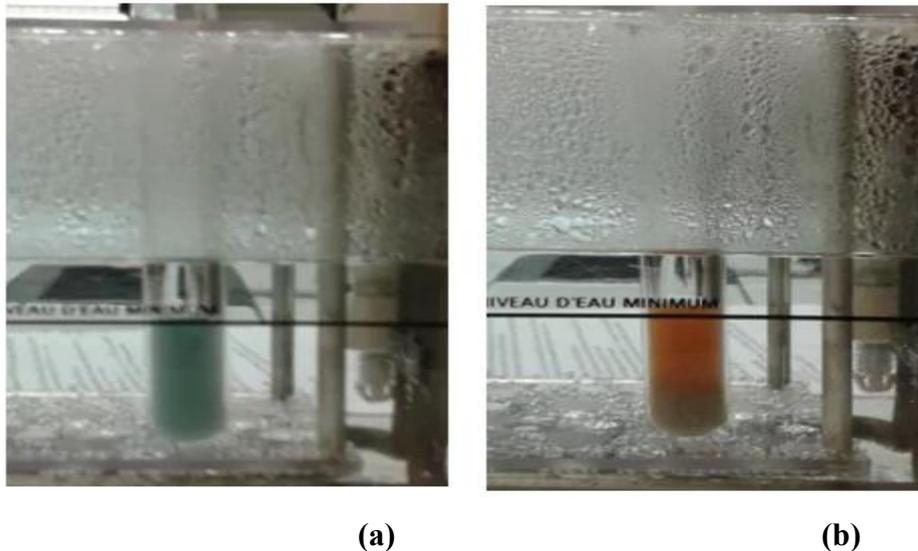
(b)

**Figure IV.17 :**(a) : Filtration sur Büchner du jus de betterave après chaulage ; (b) : A gauche, jus de betterave après chaulage: les impuretés forment un précipité. A droite: solution après filtration.[61]

### A. Mise en évidence de la présence de sucre

Avant de continuer, il faut vérifier que l'extraction du sucre de betterave a fonctionné. La liqueur de Fehling est un révélateur de la présence de glucose, cependant le sucre de la betterave est le saccharose. Il doit s'hydrolyser pour devenir du glucose. Lors de l'infusion précédemment réalisée pour extraire le sucre, la chaleur a en partie hydrolysé le saccharose présent en glucose. La liqueur de Fehling est de couleur bleue : si le test est positif, la couleur vire à l'orange. Pour cette étape, le matériel utilisé est le suivant : Jus précédemment purifié ; Liqueur de Fehling ; Tube à essais ; Bain marie. Le Mode opératoire a été suivi est respecté les étapes suivantes :

- ✓ Remplissage d'un tube à essais d'un peu de solution de jus de betterave.
- ✓ Ajout de quelques gouttes de liqueur de Fehling.
- ✓ Mettre le tube à essais au bain-marie le temps que la liqueur agisse.
- ✓ Si la solution devient orange, le test est positif. Sinon la solution reste bleue.
- ✓ Attendre à ce que le test soit positif, et que la liqueur de Fehling devienne de couleur orange.



**Figure IV.18 :** (a) Solution de betterave et de liqueur de Fehling au bain-marie en début de réaction. (b) : Solution de betterave et de liqueur de Fehling au bain-marie en fin de réaction.

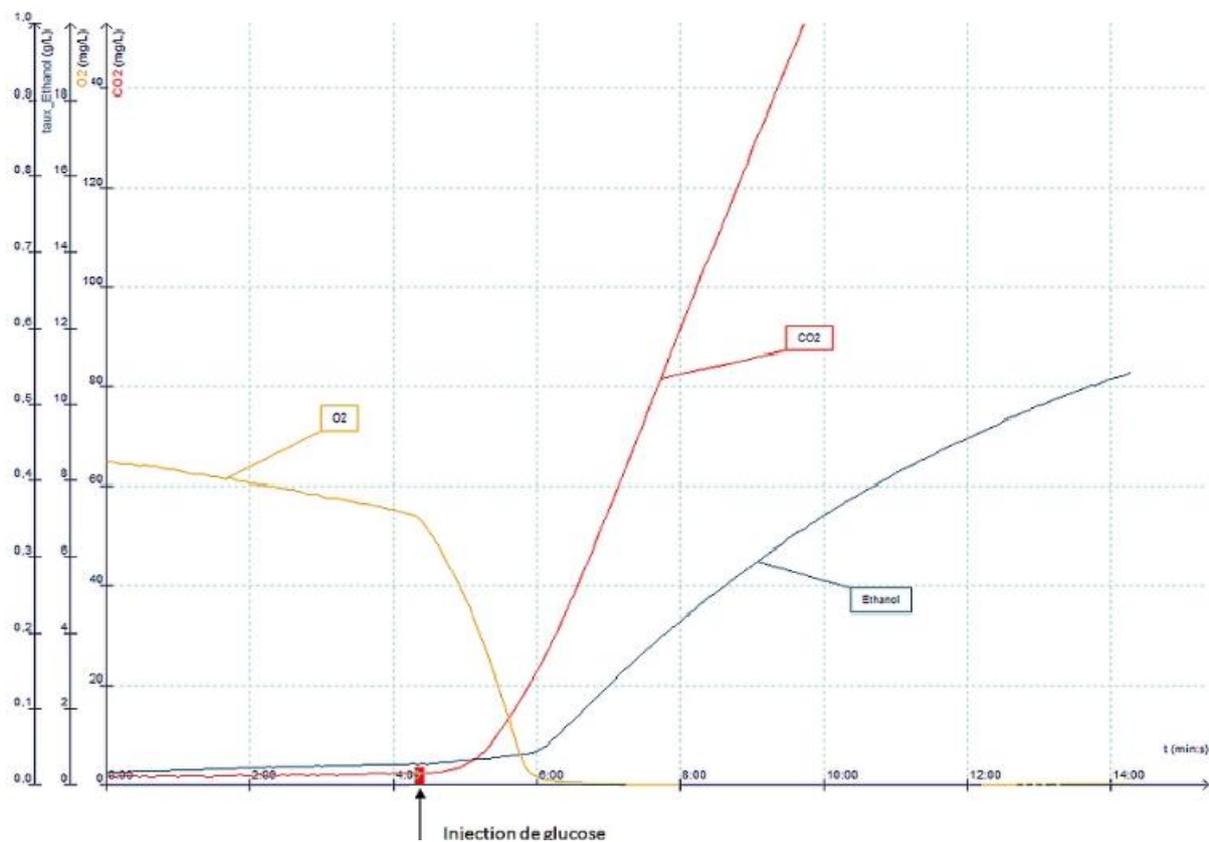
### B. Mise en évidence de la fermentation

Si le test à la liqueur de Fehling est positif, c'est parce qu'il y a présence de glucose, donc de sucre, et que l'extraction a fonctionné car il provient de l'hydrolyse du saccharose extrait de la betterave. Pour obtenir de l'éthanol, il faut procéder à une fermentation pour transformer le sucre présent en alcool. Pour cela, ils ont mis en évidence les réactions qui ont lieu lors de la fermentation à l'aide d'un montage contient le matériel suivant : Montage Exao ; Levures en suspension, à jeun ; Glucose. Le Mode opératoire respecté est :

Remplir la cuve avec les levures en suspension.

- ✓ Placer les sondes à dioxygène, dioxyde de carbone et éthanol.
- ✓ Commencer l'acquisition.
- ✓ A quatre minutes, injecter quelque millilitre de glucose.
- ✓ Observer l'évolution des niveaux de dioxygène, de dioxyde de carbone et d'éthanol pendant 10 minutes après l'ajout du glucose.

La figure IV.19 représente le graphique qu'ils ont obtenu:



**Figure IV.20 :** Graphique représentant la quantité de dioxygène, de dioxyde de carbone et d'éthanol avant, pendant et après l'ajout de glucose dans une solution de levures en suspension. [61]

### C. Fermentation du jus sucré

Le test à la liqueur de Fehling étant positif, nous savons qu'il y a présence de saccharose, donc de sucre, et que l'extraction a fonctionné. Pour obtenir de l'éthanol, il faut procéder à une fermentation pour transformer le sucre présent en alcool. Le matériel utilisé est le suivant : un Bécher ; un Erlenmeyer de 500 mL ; le Jus sucré ; Levures ; et l'agitateur en verre. Pour cette étape et comme le montre la figure IV.21, ils ont agréé le mode opératoire suivant :

- ✓ Peser 10 g de levures.
- ✓ Prélever quelques ml de solution de jus sucré de betterave et y mélanger les levures de façon à bien les diluer.
- ✓ Ajouter le mélange au reste de la solution et mélanger uniformément.
- ✓ Placer l'erlenmeyer dans un milieu sans lumière pendant au moins deux semaines pour permettre aux levures d'agir.



**Figure IV.21 :**(a) Total de production de jus sucré de betterave avec levures ; (b) Jus sucré de betteraves et levures mélangées.

### D. Distillation de l'alcool

La distillation s'agit de séparer l'éthanol du reste de la solution. La température d'ébullition de l'éthanol à pression ambiante est de 79°, il s'agit donc de faire évaporer l'éthanol présent et de le récupérer avec une colonne à distiller. C'est pour cela, le matériel utilisé est : Chauffe-ballon ; Ballon ; Colonne Devigreux ; pierre ponce ; Jus de betterave fermenté ; Thermomètre ; Bêcher ; Réfrigérant à eau. Le mode opératoire réalisé est le suivant :

- ✓ Placer la solution de jus de betterave fermenté à distiller dans le ballon.
- ✓ Ajouter quelques grains de pierre ponce.
- ✓ Adapter la colonne devigreux au ballon, ainsi que le thermomètre à la colonne et le réfrigérant à eau.
- ✓ Mettre à chauffer sur le chauffe-ballon; porter les vapeurs à 79°C et les maintenir à cette température.
- ✓ Lorsque cette température est atteinte, placer le bêcher sous le réfrigérant: le liquide récupéré est alors l'éthanol extrait ainsi qu'un peu d'eau.

A la des expérimental du [61] ils ont récupéré 3,3 ml de distillat pour 450g de betterave et 900 ml d'eau. Reste à déterminer le volume en éthanol de cette solution. Il nous reste plus qu'à déterminer sa concentration en éthanol calculer par :

$$C_c = C_d * V_d / V_c = 16 * 0.15 / 0.003 = 727.27 \text{ g/L}$$

où

- $C_c$  la concentration en éthanol du distillat en g/L
- $C_d$  la concentration en éthanol du distillat dilué en g/L
- $V_d$  le volume dilué en L
- $V_c$  le volume du distillat en L

Donc, avec 3,3 ml de distillat dilué dans 146,7 ml d'eau distillée pour un volume total de 150 ml, ils ont obtenu une concentration en éthanol de 16 g/L. ils ont finalement obtenu un distillat avec une concentration en éthanol de 727,27 g/L, ce qui correspond à un distillat à 92°c d'alcool.



(a)

(b)

**Figure IV.22 :** (a) : Extraction de l'éthanol du jus de betterave fermenté. (b) : Les vapeurs à 79°c sont les vapeurs d'éthanol à récupérer.

Pour conclure, ils ont découvert qu'il existe un certain problème de rendement lors de la synthèse de bioéthanol: en effet, ils ont utilisé **450 g** de betterave et **900 ml** d'eau distillée, pour au final n'obtenir que **3,3 ml** de distillat.

### IV.4. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons fait une synthèse entre plusieurs travaux scientifique effectuées pour extraire le bioéthanol à partir de la betterave sucrière. Les protocoles des travaux se base sur une fermentation alcoolique du jus de Betteraves en utilisant la levure de type *S. cerevisiae* grâce à sa disponibilité, sa croissance rapide, sa résistance à certains contaminants, son pouvoir fermentaire et surtout sa capacité de consommer la plupart des sucres. Les résultats les plus intéressants au terme de quatre travaux sont :

- L'analyse physicochimique de l'extrait de betterave montre qui montre la richesse des substrats de betterave en saccharose;
- La bonne croissance des levures dans le jus de betterave concentré pendant la fermentation est due à l'enrichissement du milieu en composés nécessaires à la croissance des microorganismes.
- La souche de levure *S. cerevisiae* s'adapte mieux dans les substrats à base de betteraves ;

## **Chapitre IV : Etude des protocoles de la fermentation alcoolique de la betterave**

---

- La distillation de jus de betterave a conduit l'obtention d'un bioéthanol de bonne qualité (volatil, inflammable, limpide et possédant une odeur piquante) ;

Les résultats obtenus dans les travaux étudiés dans ce chapitre, montre qu'il était possible de réussir un procédé de fermentation optimal avec une bonne productivité en alcool. Ils ont obtenu tous un bioéthanol de bonne qualité (volatil, inflammable, limpide et possédant une odeur piquante). Leurs résultats permettent d'envisager des études plus approfondies pour la mise au point d'un procédé de valorisation de milliers de tonnes de biomasse produite par les industries agroalimentaires.

# **Conclusion générale et perspectives**

### Conclusion générale et perspectives

Suite à l'étude théorique que nous avons effectuée dans le cadre de ce mémoire de fin d'étude, nous avons constaté que la production de biocarburant ne cesse d'augmenter. Dans certains pays le bioéthanol est très utilisé dans l'automobile et dans d'autres domaines. Puis, dans un deuxième temps, nous avons noté qu'en termes d'écologie, le bioéthanol constituait un progrès dans la diminution des émissions de gaz polluants. En effet, nous avons montré que le bioéthanol paraît être un carburant fiable, adaptable aux automobiles, et pouvant être produit à partir de multiples végétaux comme la betterave dans notre cas. Tous ces arguments montrent bien la fiabilité du bioéthanol comme carburant. Il a aussi la qualité de posséder un impact carbone presque nul car il est issu de plantes, qui ont donc consommé du dioxyde de carbone durant leur vie, donc son utilisation ne présente pas de danger pour la nature car au final pas plus de dioxyde de carbone est rejeté qu'il n'y en avait.

Cependant, nous avons aussi vu que le développement de ce carburant pose quelques problèmes et surtout la concurrence avec la filière alimentaire qui nécessite un engagement mondial qui mettrait du temps à se mettre en place. Pour certains, la solution se trouve plutôt dans le développement d'une nouvelle génération de biocarburants, qui ne nécessite pas de surfaces cultivables qui feraient concurrence avec la filière alimentaire.

Les travaux scientifiques étudiés dans le cadre de cette étude ont pu montrer la capacité de la souche de levure, *S. cerevisiae* à fermenter le glucose du jus de betterave sucrière en bioéthanol avec un grand dégagement de CO<sub>2</sub> susceptible d'être valorisé. Les betteraves est une matière première qui contient une grande quantité de sucres complexes (saccharose) qui exigent un prétraitement poussé pour rendre ce saccharose accessible aux microorganismes. Les fermentations à haute densité permettrait par unité d'alcool, à la fois de diminuer la consommation en eau pour la réalisation des milieux de fermentation, diminuer le volume de déchet à traiter ainsi la quantité d'énergie nécessaire pour la distillation. Ce qui

## **Conclusion générale et perspectives**

---

aurait pour effet de diminuer l'impact environnemental de la production d'éthanol mais aussi de diminuer les coûts de production et ainsi d'augmenter la compétitivité de l'éthanol de betterave en tant que carburant renouvelable.

Enfin, on peut citer nombreuses perspectives découlent de cette étude :

- Une étude plus approfondie des caractéristiques physicochimiques et biologiques du jus de betterave sucrière;
- L'isolement d'autres microorganismes plus performants capables de d'hydrolyser et fermenter simultanément le saccharose sans passer par un traitement préliminaire afin de diminuer le coût du procédé ;
- Une analyse et séparation complètes des produits de fermentation afin de pouvoir récupérer les composés à valeur ajoutée synthétisés avec le bioéthanol;
- L'aboutissement des différents projets Algériens concernant les réalités industrielles pour faire fonctionner les voitures essences au bioéthanol avec ou sans modifications du moteur selon la concentration en éthanol du carburant utilisé.
- L'utilisation en Algérie du bioéthanol dans un moteur à essence à condition de posséder une voiture flex-fuel ou à moteur essence équipé d'un kit de conversion pour l'éthanol ;
- Modification du génome d'une bactérie destinée exclusivement à la production de bioéthanol ;
- Implantation des fermentations à haute densité pour la production d'éthanol à l'échelle industrielle.
- Commercialisation du bioéthanol à partir de micro-algues,



### Références bibliographiques

- [1]- Julien, Riess J., 2012. Intensification de la brique « fermentation alcoolique » des substrats Betteraviers et autres substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, P18 Université de Toulouse. France.
- [2]- EBERT, P.R., M.A. ANDERSON, R. BERNATZKY, ALSCHULER et A.E. CLARKE. Genetic polymorphism of self incompatibility in flowering plants. *Cell*, vol. 56, pp. 255-262, 1989.
- [3]- Le sucre. Documentation pédagogique. Histoire du sucre. CEDUS. 1999
- [4]- Sugar Technology PW Van der Poel, H. Schiweck, T. Schwartz, Ed. Bartens 1998.
- [5]- INA P-G – Département AGER – 2003.
- [6]- Documentation pédagogique. Histoire Du soleil au sucre. CEDUS. 2011
- [7]- Documentation pédagogique. Histoire du Mémo statistique. CEDUS. 2012
- [8]- Moule, C. (1982). Plantes sarclées et diverses. Paris, La Maison Rustique
- [9]- Julien, Riess J., 2012. Intensification de la brique « fermentation alcoolique » des substrats betteraviers et autres substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, P22 Université de Toulouse. France.
- [10]- Paillet F., Taillades G., 2013. Les biocarburants, recherche scientifique. Université Montpellier 2, France, 18 pages.
- [11]- BNDES/CGEE Coord., 2008, Bioéthanol de canne à sucre. Livre énergie pour le développement durable, Rio de Janeiro, BNDES-CGEE. 1<sup>ère</sup> édition, 316 pages.
- [12]- Azmah J., Rahmath A., Siti H., Hartinie M., Jualang A., 2016. A review on a third generation feedstock bioethanol. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 65(6016), pages 757, 758.
- [13]- [www.uarga.org.com](http://www.uarga.org.com) 24/04/2017
- [14]- Demirbas M.F., 2009. Bio-refinerie for biofuel up grading a critical review. *Appl. Energy*, no 86, pages 151-161. [www.uarga.org.com](http://www.uarga.org.com) 24/04/2017
- [15]- Lestari S. et al., 2009. Transforming triglycerides and fatty acids into biofuel. *ChemSusChem*, 2(12), pages 1109-1119
- [16]- Riess J., 2012. Intensification de la brique « fermentation alcoolique des substrats betteraviers et autres substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. France, 177 pages.
- [17]- Saidi A., 2011. La biomasse lignocellulosique et la bioénergie. *Bio énergie et environnement*, no 21, pages 4-5.
- [18]- Riess J., 2012. Intensification de la brique «

## Références bibliographiques

---

- fermentation alcoolique »des substratsbetteraviers et autre substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. France ,177pages
- [19]-Ballerini D. ,2002. Production d'éthanol à partir de biomasse. *Revue L'actualité chimique*, n° 261, pages 83-87. [20]Renewable Fuels Association, 2008, Changing the climat: Ethanol industry outlook 2008, [http://www.ethanolrfa.org/objects/pdf/outlook/RFA\\_Outlook\\_2008.pdf](http://www.ethanolrfa.org/objects/pdf/outlook/RFA_Outlook_2008.pdf).Retrieved2008-05-10. Source: F.O. Licht (dernière consultation 09/03/2010)
- [21]-Sanchez O. J., Cardona C. A., 2008, Trends in biotechnoogical production of fuel ethanol from different feedstocks, *Bioresour. Technol.* 99, p. 5270-5295
- [22]- Das Neves M. A., Kimura T., Shimizu N. et Shiiba K., 2006, Production of Alcohol by SimultaneousSaccharification and fermentation of Low-grade Wheat Flour, *Braz. Arch. Biol. Techn.* Vol.49, n. 3,p. 481-490 [23]Taherzadeh M.J. et Karimi K., 2007, Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review, *Bio resource ethiol.*, vol. 2, n°4, p. 707-738
- [24] -Akbi A., 2013.Les implications du développement des biocarburants. Thèse de Doctorat, Ecole doctorale 513 Droit Et Sciences Politiques, Économiques et de Gestion Nice, paris, 229 pages.
- [25]-Lorne D., 2011. Le point sur les biocarburants progression des marchés nationaux et internationaux. IFPEN.
- [26]-Riess J., 2012.intensification de la brique « fermentation alcoolique »des substrats betteraviers et autre substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. France,23pages [27]-BNDES/CGEE Coord., 2008, Bioéthanol de canne à sucre .livre énergie pour ledéveloppement durable, Rio de Janeiro, BNDES-CGEE.1ere édition ,316 pages.
- [28]- France Agrimer, 2011, L'économie sucrière Campagne 2009/10, Juin 2011, Edition l'arborial[29]-Nag A., 2008, Biofuelrefining and performance, Mc Graw Hill editions[30]-Hugues P., 2015. Stratégies technologique et réglementaire de déploiement des filières bioénergies françaises. Thèse de doctorat, École nationale supérieure des mines de Paris, France ,265 pages.[31]-Touzi A., Azbbès N., 1988. Avant-projet de Réalisation d'Unité de Production de Bioalcool, Rapport Intern, Lab. Biotech, Dans les Wilayas de Biskra, Adrar et

## Références bibliographiques

---

- Ghardaïa, Algérie. 56pages.[32]-Kara Ali M., 2014. Isolement et caractérisation de souches levurienne des milieux arides productrices de l'éthanol sur différents substrats. Thèse de doctorat, Université Constantine 1, Algérie. 129 pages.[32]-Riess J., 2012.intensification de la brique « fermentation alcoolique »des substratsbetteraviers et autre substrats pour la production d'éthanol. Thèse de doctorat,Université de Toulouse. France ,177pages.
- [33]-Akbi A, 2016. Le potentiel algérien en bio énergies. *Revue des EnergiesRenouvelables*,n014, 120-122.
- [34]-Volle F., Les biocarburants[http://www.iutsd.univparis13.fr/iutsd/images/Developpement\\_durable/F-VOLLEBiocarburants](http://www.iutsd.univparis13.fr/iutsd/images/Developpement_durable/F-VOLLEBiocarburants)le11/04/2017
- [35]-Derbali M., 2012. Conception d'une bioraflinerie de deuxième génération. Master académique .université kasdiMarbach Ouargla. Algérie.46 pages.
- [36]-M. Balat, 'Production of BioethanolfromLignocellulosicMaterials via the BiochemicalPathway: A Review', Energy Conversion and Management, Vol. 52, N°2, pp. 858 – 875, 2010.[37]-Barchmann H., le potentiel de la biomasse dans les pays méditerranéens. [www.europarl.europa.eu/.../pdf/energie\\_draft\\_report\\_biomasse\\_plus\\_amendments\\_fr](http://www.europarl.europa.eu/.../pdf/energie_draft_report_biomasse_plus_amendments_fr) 24/04/2017[38]-wertz J., 2012.Prétraitement de la biomasse lignocellulosique. *Revue rencontre de labiomasse*, n09, pages 60-62.
- [39]- N. Sarkar, S.K. Ghosh, S. Bannerjee and K. Aikat, 'Bioéthanol Production from Agricultural Waste: An Overview', RenewableEnergy, Vol. 37, N°1, pp. 19 – 27, 2012.
- [40]- épreuves régionales de l'académie de Grenoble [http://www.olympiadeschimie.fr/Concours\\_2009/Grenoble/Grenoble\\_TP\\_2009.pdf](http://www.olympiadeschimie.fr/Concours_2009/Grenoble/Grenoble_TP_2009.pdf) 27/04/2017
- [41]-Kaidi F., Touzi A., 2001.production du bioéthanol à partir des déchets de dattes.*Revue Energie Renouvelable. : Production et Valorisation – Biomasse*, pages 75-78.
- [42]-FromentinF., 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..
- [43]- NGUYEN Thanh Dat, 2016 « de la levure *Saccharomyces cerevisia*epar un système biopolymérique multicouche : effet sur son activité métabolique en réponse aux conditions del'environnement». Thèse de doctorat Université de Bourgogne.

## Références bibliographiques

---

- [44]-Ibtissem, FENNOUCHE, juin 2017 « Production de bioéthanol à partir de résidus d'agriculture » MEMOIRE de Master de Université Badji Mokhtar- Annaba.
- [45]-Amillastre A., 2012. Amélioration de la robustesse de souches de levures aux stress technologiques par une stratégie de génie microbiologique. Application à la production industrielle de bioéthanol à partir de matières premières agricoles. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France. 294 pages.
- [46]- ZEROUALI Amine, 2019. Valorisation de la mélasse de canne à sucre (raffinerie groupe Berrahel) pour la production du bioéthanol. de mémoire d'Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
- [47]-Revuz B., (1979). Microbiologie et industrie alimentaire (culture de la levure sur mélasse). (Ed) Lavoisier. Paris, pp 113-120.
- [48]-Larpent J. P. Gourgoud M., (1985). Elément de microbiologie. Ed. Herman. Paris, 464p.
- [49]-Maréchale P.A. Martinez Poirier I. et Gervais P., (1999). The importance of the Kinetics of application of physical stresses on the viability of microorganism: significance for minimal food processing. Trends in food science and technology; 10:15-20
- [50]-Alguilera F. Peinado R. A. Millan C. Ortega J. M and Mauricio J. C., (2006) Relationship between ethanol tolerance (+)-ATPase activity and lipid composition of the plasma membrane indifferent win yeast strains ; Int J food Microbiol:110-34.42
- [51]-Ryu D.D. Kim Y.J. Kim J.H. (1984). Effect of air supplement on the performance of Continuous ethanol fermentation system. Biotechnology and Bioengineering, 26(1), 12-16.
- [52]- Wang D.I. Cooney C.L. Demain, A.L. Dunnill P. Humphrey A. Lilly M. (1979). Fermentation and enzyme technology. Wiley interscience publication, New York.
- [53]-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 supérieure d'agronomie El-Harrach Alger, Algérie. 171 pages.
- [54]-Plaucha W., 2001. comparaison des performances techniques des résultats des qualités physico chimique et microbiologique du sirop issu de trois atelier. Mémoire de fin d'étude. université agronomique. université d'état D'Haïti 92 pages.
- [55]-O'Donohue M., 2008. La production de carburant a partir de la biomasse lignocellulosique par voie biologique, *Article OCL*. n°3, page 15.
- [56]-Tesquet G., 2013. Etude de la réaction de Guerbet à partir de bioéthanol sur des oxydes mixtes de type pérovskite. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale l'Université

## Références bibliographiques

---

de Lille1, 253 pages[57]- Rahmath A., Siti A., Sitihajar M A., 2016. a review on third generation bioethanol

feedstock, *renewable and sustainable energy reviews*. no65, pages 756-769

[58]-Novak, M.H., Valorisations non alimentaires des coproduits de la transformation de la Betterave sucrière

<http://www.valbiom.be/files/gallery/valorisationbetteravesucriere1196164806.pdf> 01/05/2017

[59]- Nicolas Lévy, « Le bioéthanol et la betterave : expérimentation », travaux pratiques, centre de Préparation à l'Agrégation externe de Chimie (École Normale Supérieure de Paris - Sorbonne Université - Université Paris-Saclay), 2014.

[62]- Boucherba N., 2015. « Valorisation des résidus agro-industriels », mémoire de magister, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa, Algérie, 73pages.

[63]- Ould el hadj M., Cheick M., hamdi W., Sayah Z., Bouaziz S., 2012. "Étude comparative de la production d'éthanol brut à partir de trois variétés de dattes communes (dégela Beida, tacherwit et hamraya) réparties dans les différentes classes de dattes (molle, demi-molle et sèche) de la cuvette de Ouargla (Sahara septentrional est algérien). *Revue Algerian journal of arideenvironment*, Vol. 2, n° 2, pages 78-87.

[64]-Bouquadida I., 2016. mise en place d'une nouvelle méthode d'indentification des mélasses toxiques. Mémoire de magistère, Université sidi Mohamed ben Abdullah .Maroc .66pages.

[65]-Almohammed F., 2017. Application des électro technologies pour une valorisation optimisée de la betterave à sucre dans un contexte de biorafinerie. Thèse de doctorat. Université de technologie, ompiène Sorbonne, France. 2013pages.

[60]-Chevalier et Ficet, Barbault, « TPE Bioéthanol », Laboratoire de chimie, 2014 <http://restitution-tpe.e-monsite.com/>

[61]-Antoine Perrier, Christopher Berthault et Moustapha Ouchrif, « Le Bioéthanol, une alternative pour l'automobile ? Les agro-carburants: une source d'énergie renouvelable car à partir de plantes », Travaux pratique TPE, laboratoire Physique-Chimie, Lycée François Villon, Les Mureaux – France 2015

