



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des science exactes et science de la nature et de vie  
Département des sciences de la nature et de vie

Référence ..... / 2023

# MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : science de la nature et de vie  
Filière : science biologique  
Spécialité : Microbiologie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**Hassani yasmine & Hasseni lyna zahra**

## Production de bioéthanol à partir des déchets agricoles

---

### Jury:

Mme Dendouga wasila	MCA	Université de biskra	Président
Mme Hayat Trabsa	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme Bouguenoun Wided	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2022/2023

## Remerciement

*Nous tenons a remercié tout d'abord le tout puissant **ALLAH** de nous avoir donné le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.*

*Nos plus vifs remerciements s'adressent à notre encadrant Madame **Trabsa Hayat** pour nous avoir donné l'occasion de réaliser ce travail sous sa direction et nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers elle et son engagement envers ce projet.*

*Un remerciement particulier aux **Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico- Chimiques** spécialement au Co- encadrant **Hameurlaine Samir** ingénieur de recherche chef section d'analyses physico-chimiques et aux doctorantes de la faculté pour les conseils et les informations qu'elles nous ont fourni, nous tenons a remercié aussi les ingénieurs de laboratoire de biologie pour leur aide et patience.*

*Par ailleurs, nous voudrions également adresser notre profond remerciement à messieurs et mes dames les jurys de département de science de la nature et de la vie de l'Université de Mohamed khider Biskra.*

## **Dédicace**

*A l'aide de dieu tout puissant, Il m'a donné la volonté, la sagesse, la force et la patience qui m'a tracé le chemin de ma vie*

*J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :*

***A mon cher père, Farid***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce Réussite est grâce de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

***A ma chère mère, Saida***

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tes prières et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité. Depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

***Je mets entre vos mains, le fruit de longues années d'études***

***A mes chers frères : Hicham et Abd allatif***

***A ma chère sœur : Ikram***

***A mes toute belles familles Hassani et Laksir grandes et petites***

***A mon amie et mon binôme : Lyna zahra***

***A tous mes amies intimes : Hanane, Narimane, Khadidja, Fatima Zahra, Khawla et Radia***

***A tous mes collègues de la promotion de Microbiologie Appliquée 2023 j'ai passé des merveilleux souvenirs avec vous.***

***A tous les enseignants qui ont contribué à ma formation***

***Yasmine***

## Dédicace

*Je tiens à dédie ce modeste travail à **ma mère, mon père, mes frères Anis et Nassim** et à la mémoire de **ma grande mère** et toute la famille **Hasseni et Choukri Bouziani** pour leurs soutiens et leurs encouragements durant toutes ces années d'étude, sans oublier **mes chères amies** pour les moments inoubliables qu'on a vécus.*

*Je tiens à souhaiter une bonne continuation à tous les membres de **la promotion Microbiologie appliquée 2023**, que ce soit dans leur vie personnelle ou professionnelle.*

**Lyna Zahra**

# Table des matières

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures .....	III
Liste des abréviations.....	IV
Introduction .....	1

## Première partie : Synthèse bibliographique

### Chapitre 01 : Généralité sur l'éthanol

<b>1.1 Ethanol .....</b>	<b>5</b>
1.1.1 Propriétés physico-chimiques de l'éthanol .....	5
1.1.2 Classification de l'éthanol .....	6
1.1.3 Utilisations d'éthanol .....	6
1.1.4 Avantages de la production d'éthanol .....	7
1.1.4.1 Avantages environnementaux.....	7
1.1.4.2 Avantages économiques .....	7
1.1.4.3 Avantages sociaux .....	7

### Chapitre 02 : Production d'éthanol par la fermentation alcoolique

<b>2.1 Fermentation alcoolique .....</b>	<b>9</b>
2.1.1 Paramètres influençant la fermentation alcoolique .....	9
2.1.2. Matière premières utilisés.....	10
2.1.2.1 Plantes sucrières .....	10
2.1.2.2 Plantes céréalières .....	10
2.1.2.3 Plantes lignocellulosique.....	10
2.1.3 Microorganismes utilisés.....	10
2.1.3.1 Levures .....	10
2.1.3.2 Bactéries .....	10
2.1.3.3 Champignons.....	11
<b>2.2 Procédé de fermentation .....</b>	<b>11</b>
2.2.1 Fermentation type batch .....	11
2.2.2 Fermentation type Fed-batch.....	11

2.2.3 Fermentation type continu.....	11
<b>2.3 Levures .....</b>	<b>12</b>
2.3.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	12
2.3.2 Métabolisme de la levure .....	12
2.3.2.1 Métabolisme fermentaire de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	12
<b>2.4 Extraction de l'éthanol.....</b>	<b>13</b>
2.4.1 Distillation.....	13
<b>2.5 Diagramme de la production d'éthanol.....</b>	<b>13</b>

## Deuxième partie : Partie expérimentale

### Chapitre 03 : Matériel et méthodes

<b>3.1 Matériel .....</b>	<b>17</b>
3.1.1 Matériel biologique .....	17
3.1.2 Matériel de laboratoire .....	17
<b>3.2 Méthodologie de travail .....</b>	<b>18</b>
3.2.1 Procédé de production de bioéthanol .....	18
3.2.1.1 Montage des bioréacteurs.....	20
3.2.1.1 Traitement des déchets .....	21
A. Lavage des déchets.....	21
B. Broyage et hydratation .....	21
3.2.1.2 Fermentation alcoolique .....	22
A. Etude de l'influence de l'agitation sur le processus de fermentation alcoolique	23
B. Etude de la fermentation en utilisant différentes matières premières .....	23
C. Etude de la fermentation en utilisant la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	23
D. Étude de l'influence du pH sur le processus de fermentation alcoolique .....	24
E. Etude de l'influence de la quantité de levure sur le processus de fermentation alcoolique .....	24
F. Étude de l'impact de la composition de la matière première sur le processus de fermentation alcoolique.....	24
3.2.1.3 Distillation.....	24
3.2.2 Analyse physico-chimique .....	25
3.2.2.1 Suivi de la fermentation .....	25

---

A. pH .....	25
B. Sucres réducteurs.....	25
C. Atténuation .....	26
3.2.2.2 Analyse de produit final .....	26
A. Inflammabilité .....	26
B. Rendement.....	26
C. Indice de réfraction.....	26
D. Analyse Infra rouge .....	27
E. Spectrophotométrie UV-Visible .....	27
3.2.3 Test d'efficacité antibactérienne.....	28
3.2.3.1 Mise en évidence des effets antibactérienne du bioéthanol .....	28
3.2.3.2 Préparation de milieu de culture.....	28
3.2.3.3 Réalisation du test .....	28
<b>Chapitre 04 : Résultats et discussion</b>	
<b>4.1 Paramètres influencent la fermentation alcoolique .....</b>	<b>30</b>
4.1.1 Effet de l'agitation sur la fermentation alcoolique .....	30
4.1.2 Effet de la levure sur la fermentation alcoolique .....	31
4.1.3 Effet de pH sur la fermentation alcoolique .....	32
4.1.4 Effet de la quantité de levure sur la fermentation alcoolique.....	32
4.1.5 Effet de la composition des matières première utilisé sur la fermentation alcoolique .....	33
<b>4.2 Suivi de la fermentation .....</b>	<b>34</b>
4.2.1 pH.....	34
4.2.2 Sucre réducteur.....	35
4.2.3 Atténuation .....	36
<b>4.3 Analyse de produit final.....</b>	<b>37</b>
4.3.1 Indice de réfraction.....	37
4.3.2 Analyse infrarouge .....	38
4.3.3 Analyse UV-vis de bioéthanol obtenue .....	44
<b>4.4 Teste d'efficacité antimicrobienne de bioéthanol .....</b>	<b>45</b>
<b>4.5 Caractéristiques physico-chimiques de produits finals .....</b>	<b>49</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>51</b>

**Listes des références ..... 54**

**Annexe**

**Résumé**



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Propriétés physiques et chimiques de l'éthanol .....	5
<b>Tableau 2.</b> Paramètres influençant la fermentation alcoolique.....	9
<b>Tableau 3.</b> Matériel et appareils utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol .....	17
<b>Tableau 4.</b> Produits utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol. ....	18
<b>Tableau 5.</b> Quantité de levure ajoutées dans l'orange et la betterave.....	24
<b>Tableau 6.</b> Effet de la levure sur la fermentation alcoolique des déchets. ....	31
<b>Tableau 7.</b> Evolution de la teneur en sucres réducteurs durant la fermentation alcoolique des échantillons utilisés. ....	36
<b>Tableau 8.</b> Atténuation des mouts des déchets. ....	37
<b>Tableau 9.</b> Résultats de l'analyse de l'indice de réfraction. ....	37
<b>Tableau 10.</b> Principaux pics d'infrarouge d'éthanol de 96°. ....	39
<b>Tableau 11.</b> Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 2 g/l de levure. ....	39
<b>Tableau 12.</b> Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 5 g/l de levure. ....	40
<b>Tableau 13.</b> Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 10 g/l de levure. ....	40
<b>Tableau 14.</b> Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 2 g/l de levure. ....	41
<b>Tableau 15.</b> Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 5 g/l de levure. ....	41
<b>Tableau 16.</b> Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 10 g/l de levure. ....	42
<b>Tableau 17.</b> Principaux pics d'infrarouge de dattes avec l'orange de 10 g/l de levure. ....	42
<b>Tableau 18.</b> Principaux pics d'infrarouge de l'écorce d'orange de 10 g/l de levure. ....	43
<b>Tableau 19.</b> Principaux pics d'infrarouge d'écorce de 10 g/l de levure. ....	43
<b>Tableau 20.</b> Principaux pics d'infrarouge de pomme de 10 g/l de levure. ....	44
<b>Tableau 21.</b> Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par la betterave de 2, 5, 10 g/l. ....	45

**Tableau 22.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par la pomme de 10 g/l de levure. .... 46

**Tableau 23.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par l'orange de 2, 5,10 g/l de levure. .... 46

**Tableau 24.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par dattes avec orange de 10 g/l de levure. .... 47

**Tableau 25.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par orange avec écorce de 10 g/l de levure..... 47

**Tableau 26.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par écorce d'orange de 10 g/l de levure. .... 47

**Tableau 27.** Caractéristiques physico-chimiques des produits finaux..... 49

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Structure chimique de la molécule d'éthanol. ....	5
<b>Figure 2.</b> Diagramme de la production d'éthanol. ....	14
<b>Figure 3.</b> Déchets agricoles (A orange), (B pomme), (C datte), (D betterave). ....	17
<b>Figure 4.</b> Diagramme de procédé de production de bioéthanol.....	20
<b>Figure 5.</b> Montage des bioréacteurs de fermentation .....	21
<b>Figure 6.</b> Fermentation alcoolique (A) et prélèvement de jus (B).....	23
<b>Figure 7.</b> Montage de hydro distillation (A) et d'évaporateur rotatif (B) .....	25
<b>Figure 8.</b> Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de marque Agilent technologies Cary 630 FTIR. ....	27
<b>Figure 9.</b> Spectrophotomètres ultraviolets-visibles de marque Agilent Cary 60.....	28
<b>Figure 10.</b> Effet de l'agitation sur la fermentation alcoolique.....	30
<b>Figure 11.</b> Effet de l'augmentation de pH sur le rendement en distillats alcoolique d'orange	32
<b>Figure 12.</b> Effet de l'augmentation de la quantité de levure sur le rendement en distillats alcoolique d'orange et de la betterave. ....	33
<b>Figure 13 :</b> Evolution de pH durant la fermentation alcoolique de betterave, orange et de pomme.....	34
<b>Figure 14.</b> Evolution de pH durant la fermentation alcoolique d'orange avec les dattes, orange avec l'écorce et l'écorce. ....	35
<b>Figure 15.</b> Spectre infrarouge de l'éthanol de 96°.....	38
<b>Figure 16.</b> Spectre infrarouge de bioéthanol produit par betterave de 2 g/l de levure. ....	39
<b>Figure 17.</b> Spectre infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 5 g/l de levure. ....	39
<b>Figure 18.</b> Spectre infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 10 g/l de levure. ....	40
<b>Figure 19.</b> Spectre infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 2 g/l de levure.....	40
<b>Figure 20.</b> Spectre infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 5 g/l de levure.....	41
<b>Figure 21 .</b> Spectre infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 10 g/l de levure. ....	41
<b>Figure 22.</b> Spectre infrarouge de datte avec l'orange de 10 g/l de levure. ....	42
<b>Figure 23.</b> Spectre infrarouge de l'orange avec écorce de 10 g/l de levure. ....	42
<b>Figure 24.</b> Spectre infrarouge d'écorce d'orange de 10 g/l de levure .....	43
<b>Figure 25.</b> Spectre infrarouge de pomme de 10 g/l de levure. ....	43

## Liste des abréviations

**ATP** : Adénosine triphosphate

**C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH** : Ethanol

**CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O** : Chlorure de calcium

**CH<sub>3</sub>CHO** : Acétaldéhyde

**CH<sub>3</sub>COCOOH** : Pyruvate

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

**C<sub>p</sub>** : Capacité calorifique a pression constante

**DNS** : Acide 3,5-dinitrosalicylique

**E** : Taux de sucres dans la solution avant la fermentation

**E<sub>a</sub>** : Taux de sucres dans la solution après la fermentation

**Eq** : Equation

**H<sup>+</sup>** : L'ion hydrogène

**H<sub>2</sub>O** : eau

**INRS** : Institut national de recherche et de sécurité

**IRFT** : Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier

**K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Sulfate de potassium

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Phosphate de monopotassium

**MgSO<sub>4</sub>** : Sulfate de magnésium

**MH** : Mueller Hinton

**n<sup>20</sup>** : Indice de réfraction à un température de 20°

**NaCl** : Chlorure de sodium

**NAD<sup>+</sup>** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**NADH<sup>+</sup>** : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**n<sup>T</sup>** : Indice de réfraction à un température

**ONUDI** : Organisation des nations unies pour le développement industriel

**PCS** : Pouvoir calorifique supérieur

**pH** : Potentiel de hydrogène

**R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation

**Sm** : Solution mère

**T°** : Température

**TCR** : Taille à court rotation

**UV** : Ultraviolet

**UV-VIS** : Ultraviolet visible

# **Introduction**

## Introduction

Actuellement les possibilités de valorisation énergétique de la biomasse par les procédés biotechnologiques représentent une solution de choix par l'utilisation des produits agricoles de faible valeur commerciale. Les activités agricoles et agro-industrielles génèrent de grandes quantités de déchets, qui constituent une charge importante pour l'environnement et un gaspillage de matière organique utile (Boulal *et al.*, 2010).

De nombreuses études ont montré que ces déchets, riches en matière organique, sont un produit valorisable et fournissent de nouvelles matières premières pour de nombreuses industries. De plus, leur valorisation par des procédés biotechnologiques contribue à l'élimination de la pollution environnementale, la production de substances à haute valeur ajoutée, et contribue au développement de l'industrie et de l'agriculture du pays, parmi la valorisation de ces déchets est la production de bioéthanol.

La palmeraie algérienne est un élément essentiel de l'écosystème oasien, et sa production génère chaque année une quantité considérable de déchets. Selon les données du Ministère de l'Agriculture, la production nationale en 1998 s'élevait à 387 313 tonnes, dont 30 à 50 % étaient constituées de déchets et de dattes de faible valeur marchande. Cela représente environ 120 000 tonnes de matières qui pourraient être utilisées de manière valorisée. (Kaidi et Touzi, 2001). Il est important de noter que le nombre précis d'unités de production de bioéthanol dans le monde peut varier en fonction de l'évolution de l'industrie. Il existe plusieurs unités dans le monde. En Algérie il n'y a qu'une seule unité de production de bioéthanol à partir des dattes, située à Biskra.

Le bioéthanol présente une large gamme d'applications il peut être utilisé comme carburant, dans les industries chimiques, des produits pharmaceutiques, désinfectants et antiseptique et cosmétiques. Les déchets les plus appliqués dans la production de bioéthanol sont la canne à sucre, de la betterave à sucre, de la mélasse et des fruits, maïs, pommes de terre etc (Liu et Shen, 2008). Le bioéthanol présente une large gamme d'applications il peut être utilisé comme carburant, dans industrie chimique, des produits pharmaceutiques, désinfectants et antiseptique et cosmétiques. Les résultats obtenus ont démontré la faisabilité du procédé aussi bien sur le plan industriel qu'au laboratoire en considérant les conditions climatiques, la disponibilité de la matière première, la disponibilité des appareils, les exigences technologiques. (Kaidi et Touzi, 2001).

L'objectif de notre travail est la production de bioéthanol à partir de différents déchets agricoles de faible valeur commerciale, par un processus de fermentation alcoolique à 32C° pendant 9 jours utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Dans cette étude, nous formulons l'hypothèse que le facteur d'agitation a un effet significatif sur le rendement de bioéthanol obtenu, que celle sans agitation, en supposant une autre hypothèse que la quantité de 10 g de levure *Saccharomyces cerevisiae* donne un meilleur rendement que 2 et 5 g de levure et aussi pour le paramètre du pH nous avons testé 2 valeurs , une de 4,9 et l'autre de 6,5 , nous avons supposé que 6,5 est le meilleur pH pour voir l'activité métabolique de la levure et par rapport au matière première betterave ,orange ,datte et pomme, nous cherchons à connaître quelle est la meilleur matière première utilisé pour la production de bioéthanol.

De ce fait, notre travail est structuré en deux parties subdivisé en chapitres : La première partie, est réservée à une synthèse bibliographique sur des généralités sur l'éthanol et la production d'éthanol par la fermentation alcoolique.

Alors que, la deuxième partie, représente la méthodologie de travail choisie, tenant compte le procédé de production de l'éthanol, les analyses physico-chimiques telles que le dosage de sucre réducteur, le pH, l'indice de réfraction, l'atténuation, spectroscopie infrarouge et spectrophotométrie UV-Visible, des analyses microbiologique pour tester la sensibilité des souches bactérienne vis-à-vis les produits finals de chaque déchets testé, ainsi que des tests d'identification des produits par l'inflammabilité. Et par la suite la présentation et l'analyse des résultats obtenus et leurs interprétations. Il est structuré en trois points : des résultats relatifs aux paramètres physicochimiques de la cinétique et de produit finale, des résultats microbiologiques ainsi que des résultats de l'identification de produit final. Enfin, une conclusion générale a pour objectif de synthétiser les résultats clés obtenus au cours de cette étude et d'identifier de nouvelles perspectives de développement.



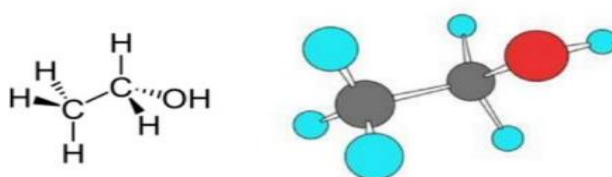
**Première partie :**  
**Synthèse bibliographique**

# **Chapitre 01 :**

## **Généralité sur l'éthanol**

## 1.1 Ethanol

L'éthanol, également appelé l'alcool éthylique, est un composant chimique formé de carbone, d'hydrogène et d'oxygène (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) (figure1), et un liquide limpide, incolore et volatil à odeur agréable, produit par fermentation des sucres contenus dans (la betterave sucrière, canne à sucre), des amidons (maïs, orge, blé...) ou de cellulose (résidus agricoles tels que la paille, résidus forestiers...) sous l'action des microorganismes. L'éthanol est utilisé à plusieurs fins telles que carburant pour alimenter les moteurs, désinfectant, solvant et conservateur et comme ingrédient principal dans la préparation des boissons alcoolisées (Onyekwelu, 2019).



**Figure 1.** Structure chimique de la molécule d'éthanol (Chibane et Ghoubal, 2020).

### 1.1.1 Propriétés physico-chimiques de l'éthanol

L'éthanol est un composé chimiquement stable. Il possède toutes les propriétés qui caractérisent les alcools notamment une réaction d'oxydation lorsqu'il est maintenu à l'air libre pour former de l'acide acétique. Par contre dans des conditions d'oxydation extrême, il se transforme en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et en eau (H<sub>2</sub>O) (Randriamahefa *et al.*, 2021). Les principales propriétés physico chimiques de l'éthanol sont définies dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Propriétés physiques et chimiques de l'éthanol (INRS).

Paramètres	Propriétés physique et chimiques
Formule	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
Apparence	Liquide incolore, volatile, odeur piquant
Masse molaire	46.0684 g/mol
Masse volumique	0.789 g cm <sup>-1</sup>
T° fusion	-114 °C
T° ébullitions	78 °C
T° d'auto inflammation	363 °C
Point d'éclair	13 °C pure
Pression de vapeur	20 °C: 5.8 kPas
Viscosité dynamique	1.20*10 <sup>-3</sup> Pas à 20°C
Capacité calorifique à pression constant Cp	111 J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>
Pouvoir calorifique supérieur PCS	1366.8 J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>

### 1.1.2 Classification de l'éthanol

Différentes qualités d'éthanol sont disponibles selon son utilisation.

- **Alcool dénaturé** : est généralement de l'éthanol avec un dénaturant ajouté (méthanol, diéthylphtalène, thiophène, l'éther diéthylique ou des condensats de gaz naturel...) pour rendre le mélange inadéquat à la consommation alimentaire. Il sert à l'entretien ménager, au nettoyage et la désinfection....(Duchemin, 1907).

- **Alcool à brûler** : est un mélange d'éthanol et de méthanol. Il est hautement toxique en raison de la présence de méthanol (généralement 5 à 10 % en volume), utilisé pour nettoyer les surfaces en verre et en plastique, remplissage de réchauds à alcool, de lampes à alcool, de brûleurs à fondue ou de cheminées à l'éthanol... (Mould *et al.*, 2000).

- **Alcool rectifié** : est un distillat titrant de 70 à 96 % volume d'éthanol par la distillation fractionnée. Il est utilisé pour la fabrication de liqueurs ou de vodka, mais aussi dans la préparation de médicaments, de solutions antiseptiques ou désinfectantes et comme solvant dans divers processus chimiques (Sorel, 1894).

- **Alcool absolu (déshydraté)** : est un type d'alcool éthylique qui est extrêmement pur contenant au maximum 1 % d'eau. Il est utilisé comme solvant dans les laboratoires et l'industrie, ainsi que comme carburant (Locquin, 1942).

### 1.1.3 Utilisations d'éthanol

L'éthanol est un composé utilisé dans de nombreux domaines, allant de la production alimentaire à la biotechnologie et à la production d'énergie.

- Matière première utilisée pour la préparation de nombreux composés : acide acétique, acrylate d'éthyle, acétate d'éthyle, éthers de glycol, éthylamine, éthylène... (Schwob, 1978).
- Solvant utilisé dans l'industrie des peintures, vernis, encres, matières plastiques, adhésifs, explosifs, parfums, cosmétiques, l'industrie pharmaceutique.... (INRS).
- Biocarburant employé dans les moteurs à combustion interne, peut être utilisé seul ou mélangé avec de l'essence (Razmovski et Vučurović, 2012).
- Composant principal des boissons alcoolisées telles que le vin et la bière...(Varela et Varela, 2019).
- Antiseptique efficace contre la plupart des bactéries, champignons et de nombreux virus, utilisé dans les solutions hydroalcooliques (Blech *et al.*, 1985).

## **1.1.4 Avantages de la production d'éthanol**

### **1.1.4.1 Avantages environnementaux**

La production et la consommation d'éthanol réduisent les émissions de gaz à effet de serre, contribuent à prévenir la déforestation et réduisent la pollution de l'environnement (ONUUDI) par la réutilisation des sous-produits du procédé de production d'éthanol comme aliment de bétail, et les résidus de la distillation comme engrais pour la terre (Armentano, 2007).

### **1.1.4.2 Avantages économiques**

La mise en place et l'intégration de l'industrie de l'éthanol mobilise des investissements dans le secteur agricole, réduisent la dépendance à l'égard des importations de combustibles fossiles et favorisent le développement industriel (ONUUDI).

### **1.1.4.3 Avantages sociaux**

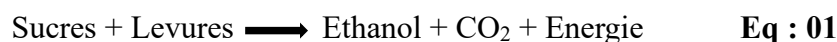
L'adoption d'une filière de l'éthanol permet de créer des emplois, de stimuler les revenus ruraux et l'accès à l'énergie, et à des effets positifs sur la santé lorsque l'éthanol est utilisé comme combustible de cuisson propre (ONUUDI).

**Chapitre 02 :**  
**Production d'éthanol par**  
**la fermentation alcoolique**

La fermentation a été utilisée par les humains depuis des milliers d'années pour produire une variété de produits alimentaires et boissons, Plus récemment, elle a également trouvé des applications dans la production d'énergie renouvelable, de produits chimiques et de médicaments. La production d'éthanol passe par une fermentation anaérobique des sucres suivie d'une distillation. Les procédés de fabrication diffèrent selon le type de biomasse.

## 2.1 Fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique consiste à transformer les sucres fermentescibles en anaérobiose par l'action des micro-organismes, principalement des levures en alcool et gaz carbonique avec dégagement de calories selon la réaction suivante (équation1) ( Kaidi et Touzi, 2001).



### 2.1.1 Paramètres influençant la fermentation alcoolique

Plusieurs paramètres affectent la production de bioéthanol sont défini dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Paramètres influençant la fermentation alcoolique.

Paramètre	Discussion
<b>Ethanol</b>	Le premier facteur limitant de la fermentation éthanolique par son action potentielle sur la croissance et la capacité fermentaire du micro-organisme (Ballerini, 2011).
<b>Concentration en sucres</b>	La concentration initiale en sucre est également considérée comme un facteur important dans la production d'éthanol. Le rendement maximal de production d'éthanol est atteint lors de l'utilisation de sucres à la concentration de 150 g/l (Maarouf, 2020).
<b>Température</b>	L'influence de la température, tant sur la viabilité et la croissance des micro-organismes que sur sa productivité en éthanol, est d'autant plus importante que les teneurs en alcool dans le milieu de fermentation sont élevées (Ballerini, 2011).
<b>Oxygène</b>	L'oxygène favorise le développement et la résistance des micro-organismes à l'éthanol et augmente le rendement de conversion des sucres en éthanol (Ballerini, 2011).
<b>pH</b>	L'acidité élevée du milieu peut induire des fermentations lentes ou bloquées, mais un pH élevé peut aussi causer des effets plus graves à la fermentation (Lin <i>et al.</i> , 2012).
<b>Éléments minéraux</b>	Les besoins des micro-organismes en éléments minéraux nécessaires à leur croissance, à leur maintenance et leur renouvellement, concernent en premier l'azote apporté sous forme d'azote ammoniacal ou d'acides aminés, suivi par le phosphore, le potassium et le magnésium (Ballerini, 2011).
<b>Agitation</b>	La vitesse d'agitation, augmente la consommation de sucre et réduit l'inhibition de l'éthanol. Plus la vitesse d'agitation est élevée, plus la quantité d'éthanol produite (Mohd Azhara <i>et al.</i> , 2017).

### **2.1.2. Matières premières utilisés**

Les matières premières utilisé pour la production d'éthanol se répartissent en trois grandes catégories (Ballerini, 2011).

#### **2.1.2.1 Plantes sucrières**

Les plantes sucrières telles que la betterave, la canne à sucre et le sorgho sucrier (sweet sorghum) qui renferment des sucres directement fermentescibles en éthanol.

#### **2.1.2.2 Plantes céréalières**

Les plantes céréalières telles que le maïs, le blé, l'orge et les tubercules comme la pomme de terre et le manioc, dans lesquels les sucres sont présents sous forme d'un polymère et amidon qui doit être hydrolysé en monomères sucrés avant d'être transformé en éthanol.

#### **2.1.2.3 Plantes lignocellulosique**

Les plantes lignocellulosique telles que les résidus agricoles, dont les pailles de céréales, ou des résidus forestiers. Ils doivent être hydrolysés en monomères avant d'être fermentés en éthanol.

### **2.1.3 Microorganismes utilisés**

Nombreuses espèces microbiennes capable de fermenter les sucres en éthanol telle que les levures, les bactéries et les champignons. Cependant, peu sont réellement compétitifs en termes de rendement en éthanol par rapport au substrat consommé, de capacité fermentaire, de tolérance à l'éthanol élevée et d'adaptation aux conditions de fermentation (Chniti, 2015).

#### **2.1.3.1 Levures**

Les microorganismes les mieux adaptés à la production d'éthanol à partir les sucres fermentescibles sont les levures du genre *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* et *pichia* (Mohd azhar *et al.*, 2017).

#### **2.1.3.2 Bactéries**

Les bactéries capables de réaliser la fermentation alcoolique sont peu nombreuses. Les plus utilisé sont *Zymomonas mobilis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella oxytoca* (Dien *et al.*, 2003).



### 2.1.3.3 Champignons

Selon Maehara *et al.* (2013) et Chen *et al.* (2022), les champignons sont capables de produire l'éthanol avec un grand rendement comme la souche *Flammulina velutipes* et *Lentinula edodes*.

## 2.2 Procédé de fermentation

Avant l'étape de fermentation, le substrat est d'abord préparé (pressage, broyage, hydrolyse chimique ou enzymatique) afin d'en faire ressortir le jus qui pourra être fermenté par les microorganismes. Des fermentations rapides avec des titres et des rendements élevés en éthanol sont recherchées pour minimiser les coûts d'exploitation et l'énergie nécessaire à la distillation telle que le système batch, Fed-batch et continu (Cot, 2006).

### 2.2.1 Fermentation type batch

C'est le plus simple des procédés utilisés en termes de mise en œuvre et d'investissement. Tout d'abord, le substrat et la levure sont ajoutés dans le réacteur de fermentation, généralement de 36 à 48 heures. Les performances dépendent évidemment des conditions de culture et des substrats utilisés. Les rendements de conversion sont de l'ordre de 90 à 95% du rendement théorique pour une concentration finale en éthanol de 10 à 16 % (v/v) (environ 80 à 125 g.l<sup>-1</sup>).

### 2.2.2 Fermentation type Fed-batch

Le fed-batch est un dérivé du batch, dans lequel le substrat est ajouté au fur et à mesure de la fermentation, afin d'éviter les inhibitions par les substrats. La production d'éthanol se déroule en deux phases : une phase de croissance cellulaire et de production d'éthanol et une phase de production sans croissance. Les concentrations finales en éthanol peuvent atteindre 19% (v/v) en 48h pour *Saccharomyces cerevisiae*.

### 2.2.3 Fermentation type continu

Le réacteur en mode continu est un système ouvert, dans lequel le milieu de culture est continûment additionné et le milieu de fermentation qui contient les métabolites produits, est continûment extrait, avec un volume réactionnel constant. La fermentation en mode continu peut combiner une cuve et un système de recyclage cellulaire dans ce cas une fraction de la biomasse cellulaire est recyclée dans la cuve. La fermentation en mode continu permet l'obtention de productivités élevées, facilite le contrôle du procédé et la maîtrise des rendements.

## 2.3 Levures

Les levures sont des eucaryotes unicellulaires, ayant une forme sphérique ou ovale. Elles appartiennent au règne des champignons et leur taille cellulaire varie de quelques microns jusqu'à 25 à 30 microns (Laour, 2020).

### 2.3.1 *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* est le microorganisme le plus largement utilisé dans les procédés microbiologiques traditionnels et industriels, ainsi que dans la fabrication de divers produits tels que le pain, le vin, la bière, les solvants et les produits chimiques à base de plastique (Laour, 2020). Il est particulièrement adapté à la production d'éthanol en raison de plusieurs avantages, notamment sa tolérance à des concentrations élevées d'éthanol allant jusqu'à 10-12% en volume, sa résistance aux niveaux élevés de sucre et aux pressions osmotiques importantes, sa stabilité à l'échelle industrielle, et sa capacité à se développer et à fermenter les sucres à des pH acides (3-4) (Ballerini, 2011).

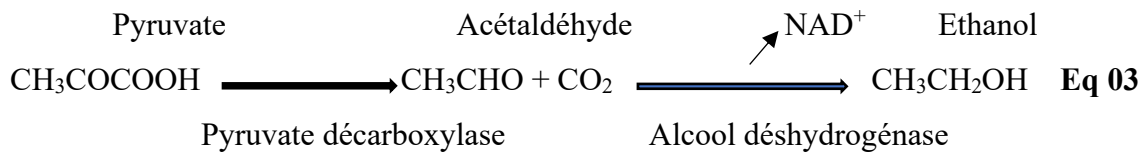
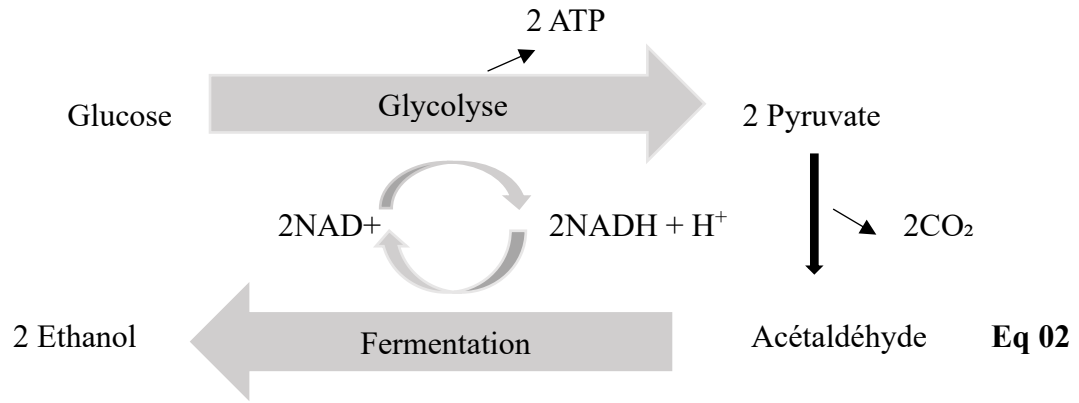
*Saccharomyces cerevisiae* est auxotrophe pour certaines molécules qui lui sont nécessaires en faible quantité, telles que l'eau, le carbone, l'azote, le phosphore, le soufre, certains acides aminés, les vitamines et les oligo-éléments, qui sont indispensables à sa croissance (Jacques *et al.*, 2003).

### 2.3.2 Métabolisme de la levure

La physiologie de la levure est caractérisée par son comportement métabolique. Les conditions environnementales et la nature de la source carbonée orientent le métabolisme de la levure qui peut être: soit oxydatif, soit oxydo-réductif soit fermentaire (Dashko *et al.*, 2014).

#### 2.3.2.1 Métabolisme fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae*

Dans les conditions anaérobies, *S. cerevisiae* présente un métabolisme fermentaire, permet la conversion du glucose en éthanol et en dioxyde de carbone. Premièrement le glucose est dégradé en deux molécules de pyruvate, deux molécules d'ATP et deux molécules de NADH par la glycolyse, qui est la voie commune à tous les modes de fermentation (équation 2). A ce niveau le pyruvate décarboxylase décarboxyle le pyruvate en acétaldéhyde ce qui entraîne la libération de dioxyde de carbone CO<sub>2</sub>, puis utilise le NADH et le H<sup>+</sup> comme coenzymes pour catalyser la réduction de l'acétaldéhyde en éthanol par l'alcool déshydrogénase (équation 3). Le NADH doit être réoxydé en NAD<sup>+</sup> pour permettre au métabolisme cellulaire de se poursuivre (équation 2) (Walker & Walker, 2018).



## 2.4 Extraction de l'éthanol

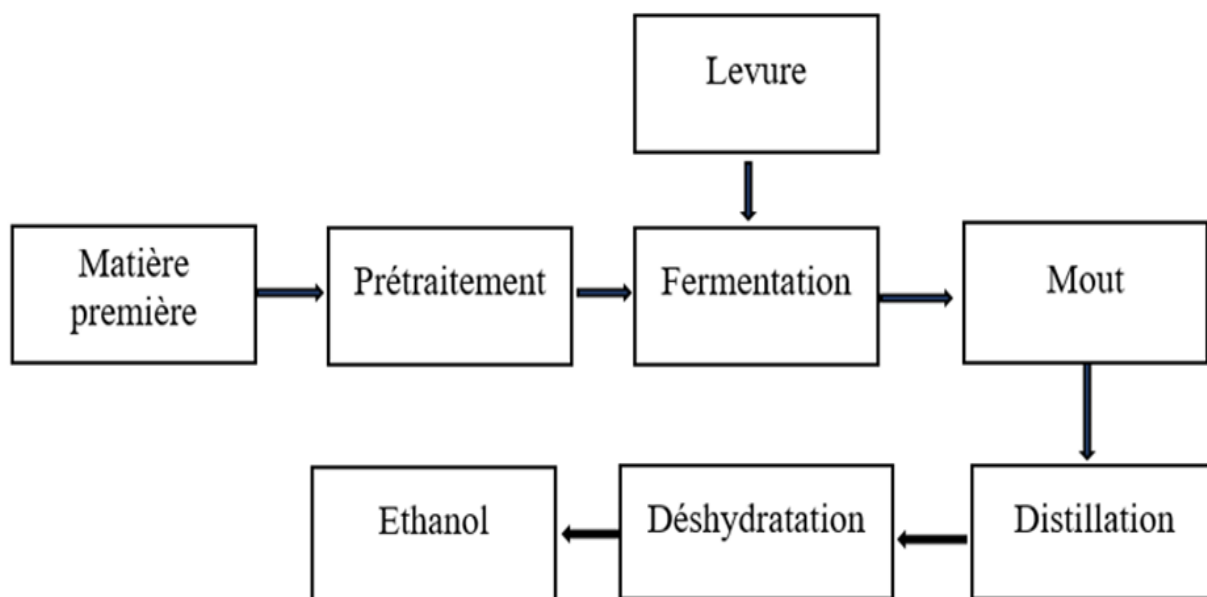
Les diverses méthodes de production d'éthanol produisent des mélanges eau-éthanol. Pour être utilisé dans l'industrie ou comme carburant, l'éthanol doit être extrait par différentes techniques parmi lesquelles la distillation azéotrope, l'adsorption, la distillation extractive et les procédés membranaires (Saini *et al.*, 2020).

### 2.4.1 Distillation

La distillation est la méthode la plus courante et la plus reconnue de purification industrielle de l'éthanol. Elle utilise les différences de volatilités des composants dans un mélange. Le principe de base est que par chauffage d'un mélange, les composants à faible point d'ébullition sont concentrés dans la phase vapeur. Par en condensant cette vapeur, on obtient des composés moins volatils plus concentrés en phase liquide (Shinnosuke Onuki *et al.*, 2008).

## 2.5 Diagramme de la production d'éthanol

D'après Ravoninjatoivo *et al.* (2021), la figure 2 (diagramme) ci-dessous, met en évidence les différentes étapes de fabrication de l'éthanol.



**Figure 2.** Diagramme de la production d'éthanol.

**Deuxième partie :**  
**Partie expérimentale**

# **Chapitre 03 :**

## **Matériel et méthodes**

### 3.1 Matériel

#### 3.1.1 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé pour la production de bioéthanol est la levure boulangère *Saccharomyces cerevisiae*, qui a été achetée dans un supermarché, les déchets agricoles : les dattes, les oranges, la betterave et les pommes (représentées dans la figure 3) qui ont été récupérés à partir d'un marché gros de légumes et de fruits de la région de Biskra à cause de leur disponibilité en quantités importantes, leur richesse en sucres et leur faibles valeurs marchandes.



**Figure 3.** Déchets agricoles (A orange), (B pomme), (C dattes), (D betterave).

#### 3.1.2 Matériel de laboratoire

Dans le présent travail, nous avons utilisé divers produits et appareils pour élaborer le procédé de production du bioéthanol. Ces produits et appareils sont cités dans le tableau 3 et 4.

**Tableau 3.** Matériel et appareils utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol.

Appareils	Marque
Spectrophotomètre UV-VIS à balayage	Agilent Cary 60
Spectrophotomètre UV-VIS	P SELECTA (2005)
Montage de distillation	HEATING MANTLES MODEL 655
Evaporateur rotatif	Heidolph
Agitateur magnétique	Robax
Réfractomètre	Pi
Thermomètre	Gerber instrument

pH mètre	OHAUS
Micro centrifugeuse	Hettich
FTIR	Agilent Technologies Cary 630 FTIR
Etuve	Memmert
Balance	ISOLAB

**Tableau 4.** Produits utilisés pour l'élaboration du procédé de production du bioéthanol.

Type de matériels	Matériels
<b>Milieu nutritionnel</b>	NaCl, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , MgSO <sub>4</sub> , CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O (SIGMA-ALDRICH)
<b>Réactifs chimique</b>	NaOH, HCl, DNS, sodium-potassium acide tartrique, éthanol 96° (SIGMA ALDRICH).
<b>Autre produit</b>	Muller Hinton (HIMEDIA), L'eau distillée (Echo Water), l'eau distillée stérile.

## 3.2 Méthodologie de travail

### 3.2.1 Procédé de production de bioéthanol

Dans cette étude, nous avons effectué des recherches bibliographiques approfondies ainsi que des tests préliminaires en laboratoire. Ces étapes nous ont permis de déterminer les paramètres choisis en termes de la sélection des échantillons, la méthode de fermentation, la préparation des échantillons, l'étalonnage du pH et la quantité de levure ajoutée. Dans l'objectif de déterminer la méthode de fermentation la plus efficace pour la production de bioéthanol.

Les échantillons utilisés dans cette étude étaient des déchets de betterave, de pomme, d'orange et de dattes, qui ont été récupérés à partir d'un marché de gros de légumes et de fruits.

Nous avons mené une expérience visant à évaluer l'effet de l'agitation sur la fermentation alcoolique en utilisant les dattes comme témoins positifs afin de déterminer la méthode de fermentation choisie pour la production de bioéthanol.

Des tests d'optimisation de la fermentation ont été effectués en utilisant différentes matières premières. Nous avons sélectionné des échantillons qui avaient été précédemment étudiés : la betterave et les dattes, ainsi que d'autres échantillons non étudiés : l'orange et la pomme. De plus, nous avons réalisé des mélanges d'échantillons : les dattes avec l'orange, l'orange avec son écorce et l'écorce d'orange.



Après avoir effectué des recherches bibliographiques, le pH le plus fréquemment étudié est de 4,9 (Lin *et al.*, 2012). Nous avons donc réalisé des tests de fermentation sur des échantillons d'orange, de pomme et de betterave à ce pH. Pour optimiser la production d'éthanol, nous avons augmenté la valeur du pH à 6,5 et effectué des tests sur les échantillons suivants : orange, orange avec des dattes, orange avec son écorce et écorce d'orange.

Dans toutes les expériences, 10 g/l de levure ont été ajoutés à chaque échantillon. Cependant, afin de maximiser la production de bioéthanol, nous avons également testé des quantités réduites de levure (2 et 5 g/l) spécifiquement sur les échantillons d'orange et de betterave.

De plus nous avons réalisé deux types de montage de bioréacteur à partir des bouteilles en verre de 2,5 et 1,5 l et un erlynmayeur de 2 l. Le premier type de montage nous a permis de prélever des échantillons afin de suivre le processus de fermentation, tandis que le deuxième type de montage a été utilisé pour la production de bioéthanol.

Enfin, nous avons effectué des tests physico-chimiques afin de surveiller le processus de fermentation et d'analyser la qualité du produit final.

Le diagramme présente dans la figure 4 résumé toutes les étapes du processus de production de bioéthanol.

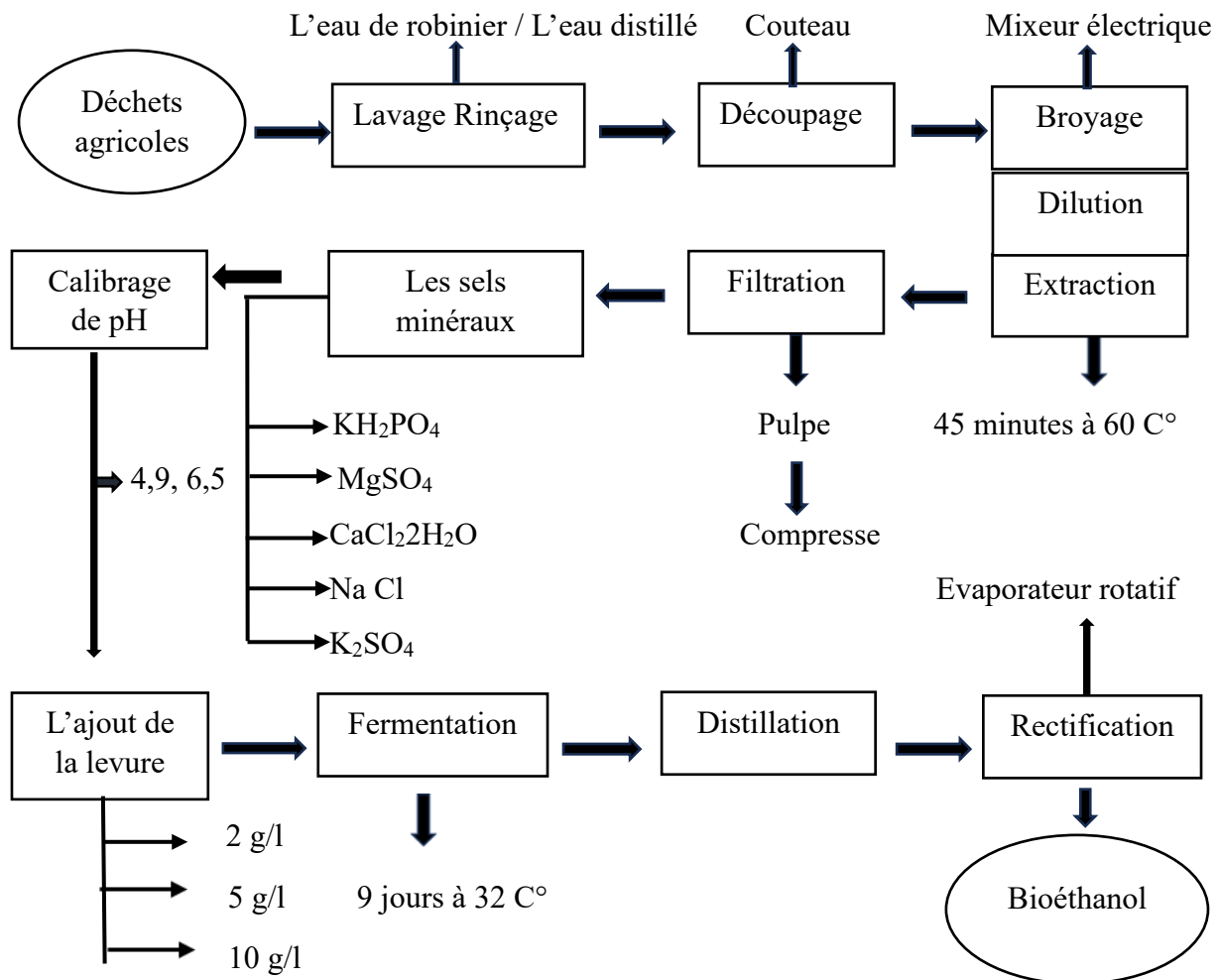


Figure 4. Diagramme de procédé de production de bioéthanol.

### 3.2.1.1 Montage des bioréacteurs

Les bioréacteurs utilisés dans notre expérience, viennent sous forme des bouteilles en verre de capacité de 2,5 et 1,5 l (figure 3), et un erlenmeyer Bicol pour suivre la fermentation alcoolique. Pour préparer le montage nous avons suivi les étapes sous-dessous :

1. Nous avons stérilisé les bouteilles en les faisant bouillir pendant une heure pour assurer leur propreté et éliminer les agents pathogènes potentiels.
2. Nous avons percé les bouchons des bouteilles et inséré un tube en plastique d'une longueur suffisante dans chaque bouteille.
3. Nous avons assuré l'étanchéité entre le bouchon et le tube en utilisant du silicone.
4. Nous avons pris des flacons de 0,5 litre, percé leur bouchon et les remplis avec de l'eau du robinet.
5. Nous avons raccordé chaque flacon avec une bouteille en utilisant le tube en plastique.

6. Nous avons assuré que le tube en plastique était immergé dans l'eau pendant le processus de fermentation. Cela permettait de garantir un dégagement de gaz (formation de bulles) et de confirmer qu'il n'y aurait pas de retour d'oxygène dans le système.
7. Pour les bioréacteurs de suivi de fermentation, nous avons percé une deuxième fois le bouchon et inséré un tube de transfusion sanguine.



**Figure 5.** Montage des bioréacteurs de fermentation.

### 3.2.1.1 Traitement des déchets

Nous avons effectué plusieurs étapes pour préparer les moûts de chaque déchet, en incluant le lavage, le broyage et la dilution. En revanche que le traitement de chaque déchet est en fonction de leur aspect.

#### A. Lavage des déchets

Cette étape permet de débarrasser toutes les impuretés. Nous avons lavé les déchets avec de l'eau du robinet

et bien nettoyé les régions contaminées, puis rincer avec de l'eau distillée.

#### B. Broyage et hydratation

Le broyage est effectué par un mixeur électrique en acier inoxydable rincé préalablement par l'eau distillée pour augmenter l'extraction des sucres. Les traitements effectués pour chaque échantillon sont montrés ci-dessous :

**Betterave :** broyer la betterave en ajoutant 700 ml d'eau distillée stérile pour chaque kilogramme de betterave.

**Pommes :** broyer la pomme en ajoutant 1250 ml d'eau distillée stérile pour chaque kilogramme de pomme.

**Dattes :** broyer les dattes en ajoutant 3000 ml d'eau distillé stérile pour chaque kilogramme de datte.

**Orange :** presser les oranges puis les diluées en ajoutant 125 ml d'eau distillée stérile dans pour chaque litre de jus.

**Orange avec son écorce :** broyer l'écorce d'oranges et les diluer en ajoutant 2000 ml d'eau distillé stérile et 1750 ml de jus d'orange pour chaque kilogramme d'écorce.

**Ecorce d'orange :** broyer l'écorce d'oranges et les diluer en ajoutant 1125 ml d'eau distillé stérile pour chaque kilogramme d'écorce.

**Dattes avec l'orange :** broyer 500 g les dattes puis les diluées en ajoutant 2100 ml de jus d'orange et 1000 ml d'eau distillé stérile pour chaque kilogramme de datte.

Toutes les préparations sont portées aux plaques chauffantes à 60 C° pendant 45 min sous agitation continue pour assurer l'homogénéisation du milieu et extraire le maximum de sucre. Après le refroidissement des jus, ces derniers sont filtrés à l'aide d'une compresse pour obtenir un jus clair.

### 3.2.1.2 Fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique des moûts de déchets a été réalisée en utilisant la levure de bière *Saccharomyces cerevisiae*. Afin d'optimiser la prolifération des levures et d'augmenter la teneur en éléments nutritifs des moûts, les sels suivants ont été ajoutés : 0,75 g/l de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,50 g/l de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 0,25 g/l de  $\text{MgSO}_4$ , 0,20 g/l de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  et 0,20 g/l de  $\text{NaCl}$  (Sadok, 2015). Le pH de chaque moût de déchet a été neutralisé en utilisant de l'acide chlorhydrique (HCl) et de l'hydroxyde de sodium (NaOH). Après l'homogénéisation de la levure avec les mouts des déchets ont été transférés dans un bioréacteur préalablement préparé, puis placés dans une étuve à une température de 32°C pendant une période de 9 jours (figure 5 (A)).

Pour suivre la fermentation alcoolique dans les échantillons, nous avons procédé chaque 24 heures des prélèvements à partir des bouteilles utilisées pour suivre la fermentation (figure 5 (B)) et transférer dans des tubes propres, secs et étiquetés puis congeler immédiatement pour être analysé.

Après 9 jours de la fermentation, les jus des déchets sont distillés afin d'extraire l'éthanol à 78 °C.



**Figure 6.** Fermentation alcoolique (A) et prélèvement de jus (B).

### **A. Etude de l'influence de l'agitation sur le processus de fermentation alcoolique**

Nous avons réalisé un essai d'optimisation pour évaluer l'effet de l'agitation et de l'absence d'agitation lors de la fermentation, en utilisant les dattes comme témoins positifs dans laquelle, la fermentation se fait dans un bain marie à 32° pendant 72 h sous agitation, et d'autre dans l'étuve dans les mêmes conditions mais sans agitation, dans l'objectif de déterminer quelle méthode de fermentation est la plus efficace.

### **B. Etude de la fermentation en utilisant différentes matières premières**

Nous avons réalisé une évaluation des déchets pouvant être utilisés pour produire du bioéthanol, en testant différentes matières biologiques, la betterave, la pomme, les dattes, l'orange et écorce d'orange. Notre étude est principalement concentrée sur l'orange, car il s'agit d'une matière première non étudiée. De plus, nous avons examiné l'effets de différents mélanges : le mélange du jus d'orange avec les dattes, le jus d'orange avec son écorce, ainsi que l'écorce d'orange sur la fermentation alcoolique.

### **C. Etude de la fermentation en utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae***

Afin d'étudier l'effet de *Saccharomyces cerevisiae* sur la fermentation des moûts de déchets, nous avons introduit 10 g/l de levure dans tous les échantillons (betterave, pomme, orange, mélange de datte avec orange, orange avec écorce et écorce). Par la suite, les moûts ont été transférés dans des bioréacteurs de production et placés dans une étuve à une température de 32°C pendant une durée de 9 jours.

Dans le but de suivre l'évolution de la fermentation alcoolique dans les échantillons, nous avons ajouté 10 g/l de levure à tous les moûts de déchets étudiés et les transférés dans les bioréacteurs spécifiquement conçus pour surveiller cette fermentation alcoolique.

#### D. Étude de l'influence du pH sur le processus de fermentation alcoolique

Afin d'évaluer l'effet du pH sur la fermentation alcoolique et la croissance des levures, nous avons réalisé des tests de fermentation sur les échantillons d'orange, de pomme et de betterave à pH de 4,9. Pour optimiser la production d'éthanol, nous avons augmenté la valeur du pH à 6,5 et effectué des tests sur les échantillons suivants : orange, orange avec les dattes, orange avec son écorce et écorce d'orange.

#### E. Étude de l'influence de la quantité de levure sur le processus de fermentation alcoolique

Dans le cadre de l'optimisation de la fermentation, nous avons sélectionné deux échantillons, la betterave et l'orange, pour évaluer l'effet de la quantité de levure *Saccharomyces cerevisiae* sur la production de bioéthanol. Les quantités de levure ajoutées dans les mouts de la betterave et d'orange sont présentées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 5.** Quantité de levure ajoutée dans l'orange et la betterave.

Echantillons	Quantité de levure (g)
Orange	2, 5 et 10 g/l
Betterave	2, 5 et 10 g/l

#### F. Étude de l'impact de la composition de la matière première sur le processus de fermentation alcoolique

La composition de la matière première peut varier d'un échantillon à un autre. Dans cette étude nous allons voir l'effet de la composition de différents échantillons sur le processus de fermentation alcoolique et la production d'alcool.

##### 3.2.1.3 Distillation

La distillation est une méthode de séparation de l'éthanol et de l'eau basée sur leur différence de température d'ébullition. Ce procédé implique de chauffer le mélange jusqu'à ce que l'éthanol s'évapore, puis de condenser les vapeurs pour obtenir un liquide purifié avec une concentration plus élevée en éthanol (Ravoninjatovo *et al.*, 2021).

Après 9 jours de fermentation, les jus des déchets sont distillés afin d'extraire l'éthanol dans un montage comportant un chauffe-ballon, une colonne de réfrigération et une erlenmeyer pour récupérer le distillat.

Après l'ébullition de jus, la vapeur commence à être condensé dans la colonne de réfrigération nous avons récupérés le distillat chaque 10 minutes et testé leur inflammabilité en mélangeant

tous les distillats inflammables du même échantillon. Après en effectuant une deuxième hydro distillation et une troisième distillation (rectification) à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapeur) pour augmenter la concentration de l'éthanol.

Après la distillation, il convient de verser l'éthanol obtenu dans des flacons correctement étiquetés et recouverts d'aluminium, puis les placer dans un réfrigérateur à 4°C afin de prévenir l'évaporation de l'éthanol.



**Figure 7.** Montage de hydro distillation (A) et d'évaporateur rotatif (B).

### 3.2.2 Analyse physico-chimiques

#### 3.2.2.1 Suivi de la fermentation

Nous avons assuré quelques paramètres pour surveiller la fermentation alcoolique des échantillons testés à partir les prélèvements effectuer.

##### A. pH

La détermination du pH, est essentielle pour le contrôle du goût, avant, au cours et à la fin de fermentation (Boulal *et al.*, 2010). Nous avons déterminé le pH de chaque échantillon par un pH-mètre de la marque OHAUS.

##### B. Sucres réducteurs

La détermination des sucres réducteurs est basée sur la méthode DNS décrite par Miller (1959). Le réactif DNS (l'acide 3,5-dinitrosalicylique) a été préparé en dissolvant 1 g de DNS et 3 g de sodium-potassium acide tartrique (nous avons diminuer la quantité de sodium-potassium acide tartrique de 30 à 3 g à cause de la non disponibilité de ce produit) dans 80 ml de solution de NaOH 0,5 N à une température de 45° C. Après la dissolution, la solution a été

diluée à 100 ml avec de l'eau distillée. Pour effectuer la mesure, 700  $\mu$ l du réactif DNS a été ajouté à 350  $\mu$ l d'échantillon dans des eppendorfs, la réaction se fait dans un bain marie à 95°C pendant 5 minute. Les échantillons sont placés directement dans de l'eau glacée pour stopper la réaction, puis centrifugés à 14000 rpm pendant 10 minutes, les analyses spectrométriques ont été réalisées à une longueur d'onde de 540 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS.

La teneur en sucre réducteur a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec D-glucose standard (0,1-1mg/l) (Khatri et Chhetri, 2020).

### C. Atténuation

L'atténuation du taux de sucre (rendement de la fermentation) est mesurée avant et après la fermentation à l'aide d'un refractomètre de marque Pi par la formule montrée dans l'équation 4 (Ravoninjatovo *et al.*, 2021).

$$\text{Atténuation} = \frac{E - E_a}{E} * 100 \quad \text{Eq: 04}$$

**E** : Taux de sucres dans la solution avant la fermentation.

**E<sub>a</sub>** : Taux de sucres dans la solution après la fermentation.

#### 3.2.2.2 Analyse de produit final

Nous avons évalué plusieurs paramètres pour déterminer la qualité et le rendement du bioéthanol obtenu à partir de différents échantillons.

##### A. Inflammabilité

Nous avons testé l'inflammabilité de nos échantillons, d'où on fait rapprocher la flamme à une quantité de distillat pour détecter la présence de l'éthanol.

##### B. Rendement

Nous avons calculé le rendement du bioéthanol produit à partir des mouts des déchets en mesurant le rapport entre le volume de bioéthanol produit par la masse ou le volume de substrat introduit dans le bioréacteur de fermentation selon l'aspect de l'enchantions.

##### C. Indice de réfraction

L'indice de réfraction c'est une bonne manière de vérifier la concentration d'alcool recueilli. Est le rapport de vitesse de la lumière dans le vide divisé par la vitesse de la lumière dans le milieu (Chibi, 2020), mesurée à l'aide d'un refractomètre de marque Pi.

L'équation utilisée pour mesurer l'indice de réfraction à 20° C est :

$$n^{20} = n^T + 0,00045 (T - 20) \quad \text{Eq : 05}$$



$n^{20}$  : indice de réfraction à une température de 20°C.

$n^T$  : indice de réfraction à une température.

#### D. Analyse Infra rouge

Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est une technique d'analyse infrarouge avancé, basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge utilisée dans le but de vérifier la pureté de bioéthanol obtenu (Chibi et El Hadi, 2018).

Les échantillons ont été analysés par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de marque Agilent technologies Cary 630 FTIR, ce dernier donne une idée sur les signatures vibratoires des bandes de produit d'éthanol et par conséquent les groupements alcooliques (Shinnosuke onuki *et al.*, 2008).



**Figure 8.** Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de marque Agilent technologies cary 630 FTIR.

#### E. Spectrophotométrie UV-Visible

Nous avons utilisé une méthode analytique qui implique l'utilisation d'un spectrophotomètre ultraviolet-visible de type Agilent Cary 60 pour évaluer la quantité de rayonnement ultraviolet ou visible absorbée dans le bioéthanol produit (Siladitya *et al.*, 2012).



**Figure 9.** Spectrophotomètres ultraviolets-visibles de marque Agilent Cary 60.

### **3.2.3 Test d'efficacité antibactérienne**

#### **3.2.3.1 Mise en évidence des effets antibactérienne du bioéthanol**

Cette étude consiste de procéder un test d'activité antimicrobienne, par la méthode de diffusion en disques et diffusion en puits dans le but de connaitre les échantillons qui inhibent la croissance des différents germes étudiés telle que (*Escherichia coli*, *Klebseilla pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aurogenosa*).

#### **3.2.3.2 Préparation de milieu de culture**

Les étapes que nous avons suivies pour préparer le milieu de culture sont présentées au-dessous.

- Dissoudre dans une erlenmeyer 38 g de Mueller-Hinton agar dans 1 l d'eau distillée.
- Chauffer sous agitation la préparation à l'aide d'une plaque chauffante- agitateur jusqu'à la dissolution.
- Verser le milieu de culture dans des flacons en verre stérile puis les autoclavés dans une cocotte-minute pendant 20 minute puis les écouler dans des boites de pétries et laisser refroidir.

#### **3.2.3.3 Réalisation du test**

Pour effectuer cet examen, les étapes suivantes ont été suivies :

- Diluer les échantillons à tester de  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$  et utiliser l'éthanol commercial à 96 % comme témoins positif.

- Prélever quelques colonies à partir des souches bactérienne (*Escherichia coli*, *Klebsella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aurogenosa*) et mettre dans des tubes à visse contenant de 10 ml d'eau physiologique puis vortexer bien jusqu'à l'homogénéisation.
- Diviser la boîte de pétri en 4 parties et dans chacune percer un puits et noté par SM, T,  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$ .
- Ensemencer par étalement à l'aide d'un écouvillon et à partir d'une solution contenant une suspension bactérienne, sur une boîte de pétrie contenant une gélose MH.
- Placer les disques sur la gélose MH et ajouter 10 ul de solution mère, témoin et les dilutions dans chaque puits et disques.
- Incuber à 37°C pendant 24 h dans une étuve.
- Après l'incubation, La lecture des résultats se fait par la mesure des dimensions des zones d'inhibitions (zones claires) autour des disques et puits représentée en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse.

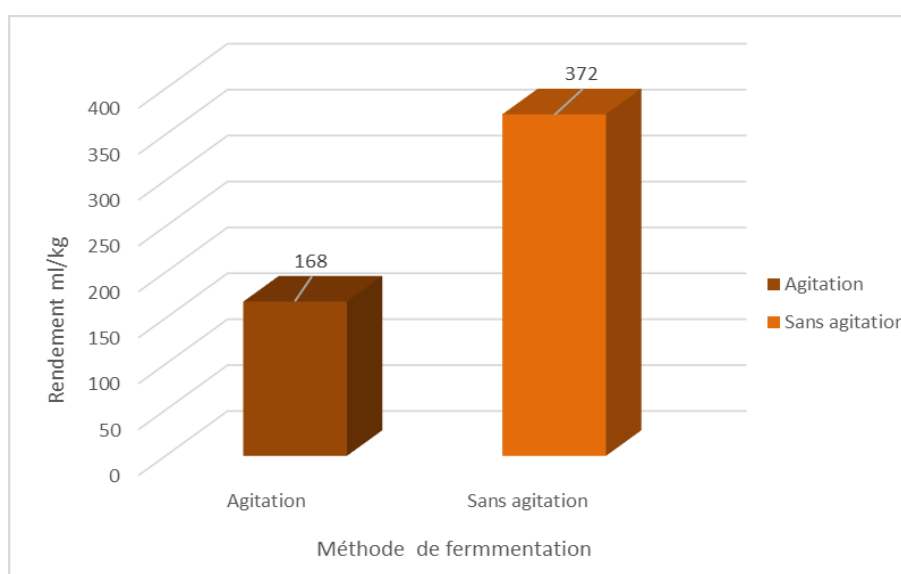
# **Chapitre 04 :**

## **Résultats et discussion**

## 4.1 Paramètres influencent la fermentation alcoolique

### 4.1.1 Effet de l'agitation sur la fermentation alcoolique

Dans les conditions de notre laboratoire, les résultats présents dans la figure 10 montrent que la fermentation des dattes sans agitation produit de 372 ml/kg de distillat alcoolique, tandis que la fermentation avec agitation a donné 168 ml/kg. Nous avons trouvé que la meilleure méthode de fermentation est celle sans agitation. Au contraire, l'agitation est un paramètre essentiel pour la fermentation alcoolique, parce qu'elle entraîne une augmentation de la consommation de sucre et réduit l'inhibition de la production d'éthanol (Mohd Azhara *et al.*, 2017).



**Figure 10.** Effet de l'agitation sur la fermentation alcoolique.

Cependant, il convient de noter certains inconvénients de l'agitation dans les conditions de notre laboratoire. Tout d'abord, il y a un contact avec l'air pendant l'agitation, ce qui peut entraîner une oxydation indésirable des composantes et par conséquent la formation de produits indésirables, tels que des sous-produits réactifs ou toxiques. De plus, la température ne peut pas être constante pendant l'agitation, ce qui peut affecter la croissance et l'activité des microorganismes impliqués dans la fermentation. De plus, le processus d'agitation peut ne pas être entièrement automatisé, ce qui peut entraîner une variabilité dans les conditions de fermentation.

#### 4.1.2 Effet de la levure *Saccharomyces cerevisiae* sur la fermentation alcoolique

Après la fermentation alcoolique et la distillation des mouts des déchets contenu une quantité de levure de 10 g/l, les résultats de rendements des distillats alcooliques obtenus sont montrés dans le tableau 6.

**Tableau 6.** Effet de la levure sur la fermentation alcoolique des déchets.

Echantillons	Orange	Betterave	Pomme	Datte avec orange	Orange avec écorce	Ecorce d'orange
<b>Rendement</b>	36,36 ml/l	45,44 ml/kg	85,25 ml/kg	130 ml/kg	147,9 ml/kg	100 ml/kg

Les rendements des distillats non inflammables obtenus à partir de l'orange avec son écorce et de l'écorce d'orange varient respectivement de 147,9 ml/kg à 100 ml/kg. La non inflammabilité de ces distillats est probablement liée à leur faible concentration en éthanol et à la présence d'eau. Étant donné que l'évaporateur rotatif n'a pas été utilisé pour l'étape de rectification dans ces deux échantillons (en panne), les distillats peuvent conserver une plus grande quantité d'eau, ce qui réduit la concentration en éthanol et rend le distillat non inflammable. Par opposition aux résultats de l'étude de Fazzino *et al.* (2021), qui a démontré que la fermentation de l'écorce d'orange pendant 28 jours conduit à la production de distillats inflammables, il est possible que la durée de fermentation utilisée dans notre étude n'ait pas été suffisante pour produire de l'éthanol à un concentration élevé à partir de l'écorce.

Les rendements des distillats inflammables varient de 36,36 ml/l à 130 ml/kg, l'inflammabilité de ces produits peut être due à la forte concentration d'éthanol. Premièrement, il a été constaté que la pomme et la betterave produisent des rendements acceptables, ce qui peut s'expliquer par la conversion des sucres présents dans les mouts en sorte inflammable. De plus, le distillat d'orange est inflammable avec un rendement de 36,36 ml/l, ce qui suggère que les matières acides peuvent servir de substrat pour la production d'éthanol.

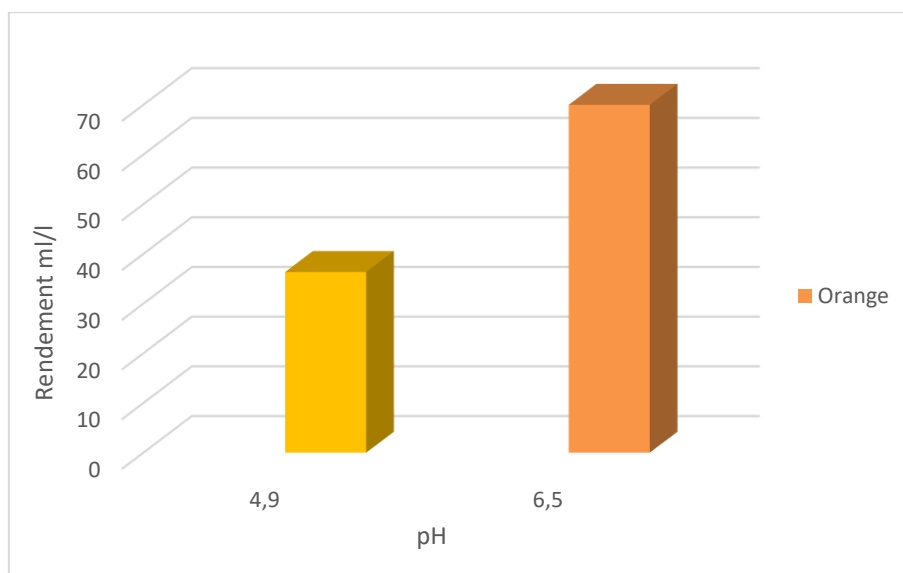
De plus, il a été constaté un rendement particulièrement élevé pour le distillat obtenu à partir du mélange d'orange et de dattes par rapport aux autres échantillons. L'association de l'orange et des sucres des dattes peut créer un milieu de fermentation équilibré qui fournit à la levure à la fois les nutriments nécessaires à sa croissance et les conditions optimales pour la fermentation. Cela peut favoriser une production plus élevée d'éthanol, ce qui explique le rendement plus important du distillat.

Enfin, la quantité de levure de 10 g/l utilisée dans le processus de fermentation joue un rôle bénéfique dans la fermentation des mouts des déchets et la production des distillats inflammables.

Les résultats obtenus par Ravoninjatovo *et al.* (2021) montrés un rendement de 70 ml/kg d'éthanol à partir de la betterave, ce qui signifie que nos propres résultats sont supérieurs aux leurs.

#### 4.1.3 Effet de pH sur la fermentation alcoolique

Dans le but de l'optimisation de la production de bioéthanol nous avons réalisé une teste sur l'orange en augmentent le pH de 4,9 à 6,5. Les résultats de rendement de distillats alcoolique d'orange présent dans la figure 11.

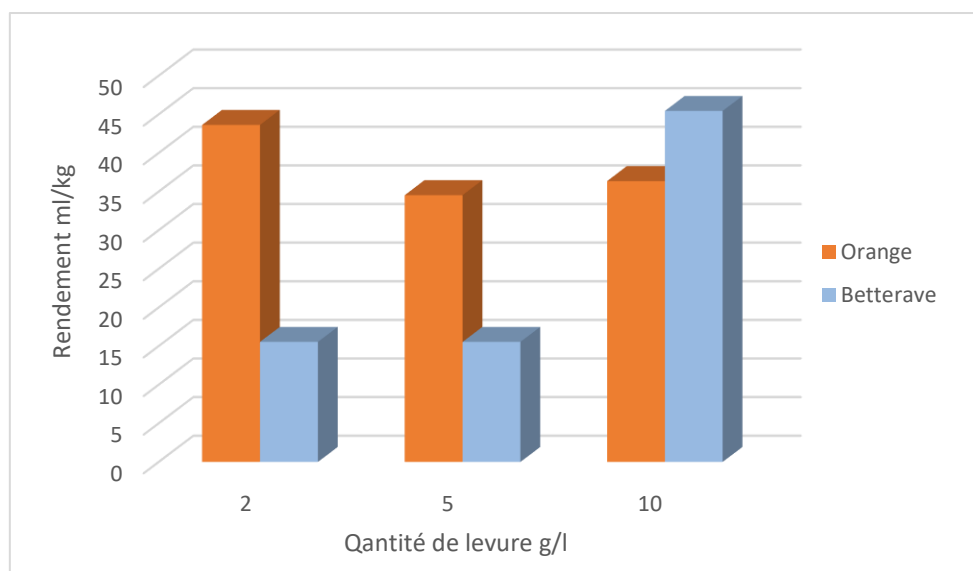


**Figure 11.** Effet de l'augmentation de pH sur le rendement en distillats alcoolique d'orange.

Nous avons constaté qu'en augmentant le pH de 4,9 à 6,5 dans l'échantillon d'orange contenant 10 g/l de levure, nous obtenons un rendement amélioré, passant de 36,36 à 70 ml/kg. Donc, un pH de 6,5 favorise une croissance optimale de la levure et améliore son activité de fermentation en créant des conditions moins acides. De plus, les deux distillats d'orange produits sont inflammables, ce qui peut s'explique par leur concentration élevée en éthanol.

#### 4.1.4 Effet de la quantité de levure sur la fermentation alcoolique

Dans le cadre de l'optimisation de la production de bioéthanol à partir d'oranges et de betteraves, nous avons effectué des tests pour évaluer la quantité de levure ajoutée aux moûts. Les résultats de l'évolution de rendement des distillats alcoolique en fonction de la quantité de levure ajoutée sont présentés dans la figure 12.



**Figure 12.** Effet de l'augmentation de la quantité de levure sur le rendement en distillats alcoolique d'orange et de la betterave.

L'orange contenant de 2 g/l de levure produit le meilleur rendement par rapport à l'orange contenant 5 et 10 g/l. Donc, la quantité de distillat alcoolique produit par l'orange est indépendante de la quantité de levure ajoutée. Cependant, l'utilisation d'une quantité excessive de levure peut également affecter négativement la fermentation.

La betterave contenant 10 g/l de levure a donné un meilleur rendement par rapport à la betterave contenant 2 et 5 g/l. Ce résultat peut s'expliquer par la présence d'une grande quantité de sucres dans la betterave, ce qui fournit un substrat plus abondant pour les levures. Par conséquent, une quantité plus importante de levure est nécessaire pour augmenter la vitesse de fermentation. Donc la quantité de distillat alcoolique produite par la betterave est dépende de la quantité de levure ajoutée.

#### **4.1.5 Effet de la composition des matières première utilisé sur la fermentation alcoolique**

La composition des matières premières utilisées dans la fermentation alcoolique joue un rôle crucial dans le processus de fermentation et le rendement en alcool obtenu. La teneur en sucre des matières premières fournit la source d'alimentation pour les levures, qui les convertissent ensuite en alcool (Maarouf, 2020). Les nutriments tels que l'azote, les vitamines et les minéraux sont également essentiels pour la croissance et la fermentation des levures (Ballerini, 2011). Cependant, la présence de substances inhibitrices, telles que des acides organiques ou des composés phénoliques, peut réduisant l'activité des levures, ce qui entraîne une diminution de la production d'alcool. De plus, le pH des matières premières peut affecter la



fermentation, car les levures ont une plage de pH optimale dans laquelle elles fonctionnent de manière optimale (Ballerini, 2011).

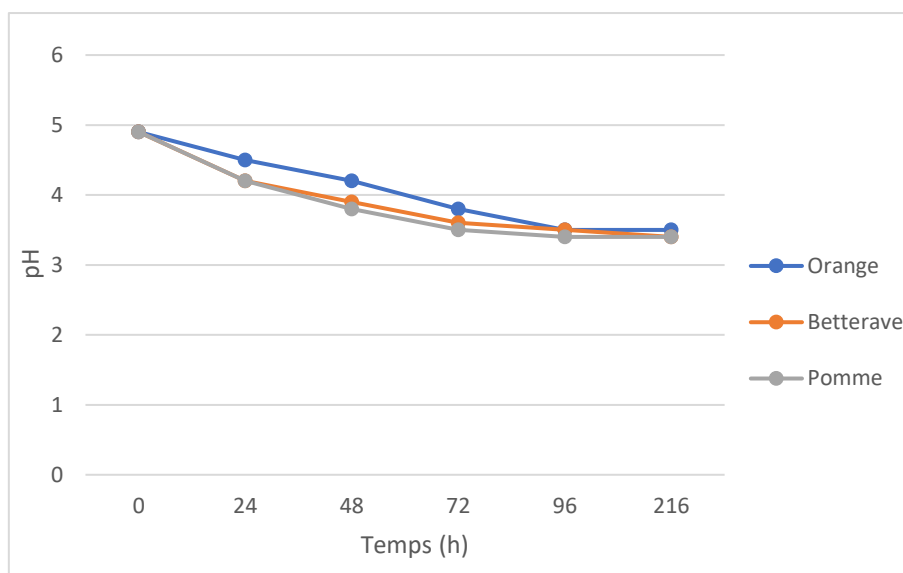
## 4.2 Suivi de la fermentation

Dans cette partie, nous présentons les résultats du suivi de la fermentation alcoolique des déchets utilisés, en incluant les mesures du pH, de l'atténuation et des sucres réducteurs, à partir des moûts prélevés pendant la fermentation alcoolique qui contenaient une quantité de 10 g /l de levure.

### 4.2.1 pH

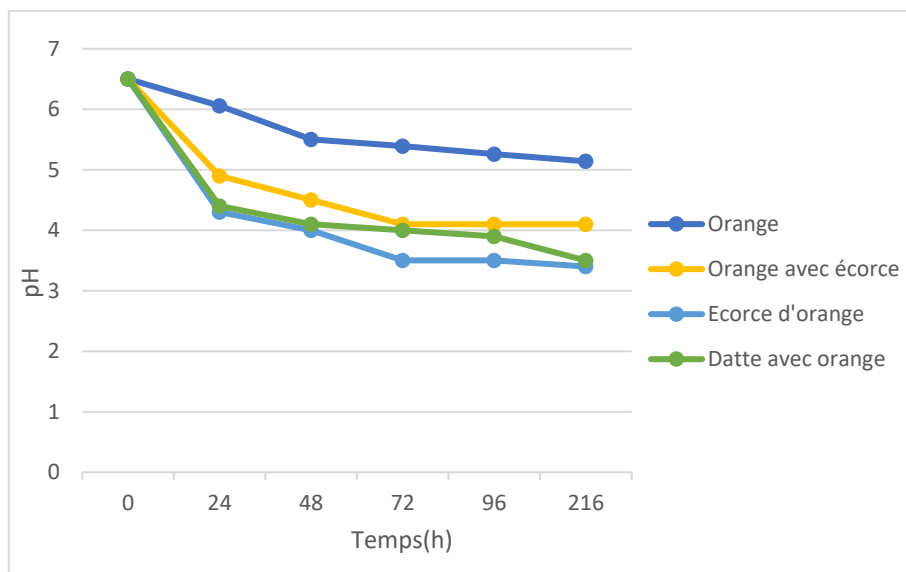
La détermination du pH est essentielle pour le contrôle de l'activité biologique. Au cours de la fermentation, le métabolisme de la levure induit un changement perpétuel du milieu. Dans ce cas, l'assimilation des substrats carbonés et azotés par la levure conduit à la production de métabolites acides ou alcools et par conséquent, libération des ions hydrogène dans le milieu ce qui influence le pH du milieu (Boulal, 2017).

Dans notre étude nous avons suivi l'évolution du pH avant durant et après la fermentation alcoolique. Les résultats de l'évolution de pH des échantillons sont présentés dans les courbes de figure 13 et 14.



**Figure 13 :** Evolution de pH durant la fermentation alcoolique de betterave, orange et de pomme.

Une diminution rapide du pH est observée durant les premières 24 heures pour les trois échantillons (pomme, orange et betterave) de 4,9 jusqu'à atteindre une valeur de 3,4 pour la betterave et pomme et 3,5 pour l'orange.



**Figure 14.** Evolution de pH durant la fermentation alcoolique d'orange avec les dattes, orange avec l'écorce et l'écorce.

Une diminution rapide du pH est observée durant les premières 24 heures pour les quatre échantillons de 6,5 jusqu'à atteindre une valeur de 3,4 pour l'écorce, c'est la même valeur trouver dans les résultats de Fazzino *et al* (2021) après la fermentation de l'écorce, et 3,5 pour l'orange avec les dattes, et 4,1 pour l'orange avec l'écorce, et 5,14 pour l'orange.

Ces degrés du pH sont nuisible au développement des bactéries mais il est favorable à la prolifération des levures et les moisissures (Bocquet,1982), ce qui est un point positif pour la fermentation alcoolique. Cet abaissement du pH est probablement dû dans un premier temps à la consommation des sucres et la production du bioéthanol, puis aux acides et alcools métabolisés par les microorganismes présents dans le moût, tels que les acides gras, en particulier l'acide octanoïque et l'acide decanoïque. Aussi, une partie du dioxyde de carbone produit se dissout dans le moût et contribue aussi à l'abaissement du pH (Peña *et al.*, 2015).

Nos résultats sur l'évolution du pH sont en accord avec les résultats de Boulal *et al.* (2019) qui ont également observé un intervalle de pH compris entre 3,5 et 4.

#### 4.2.2 Sucre réducteur

Les résultats concernant l'évolution de la teneur en sucres réducteurs pour les sept mouts sont représentés par l'équation de la gamme de sucre réducteur :  $y = 0,099x + 0,031$  avec  $R^2 = 0,9914$ . En prenant en compte le fait que la sensibilité de cette méthode est relativement faible, il convient de souligner qu'elle demeure la seule méthode disponible.

Les résultats de l'évolution de la teneur en sucres réducteurs durant la fermentation alcoolique des déchets sont représentés dans le tableau 7.

**Tableau 7.** Evolution de la teneur en sucres réducteurs durant la fermentation alcoolique des échantillons utilisés.

Echantillons	Teneur en sucre réducteur	Teneur en sucre réducteur	Pourcentage
	avant la fermentation (mg/ml)	après la fermentation (mg/ml)	
Orange (pH 4,9)	16,84	2,90	82,77 %
Betterave	169,36	10,10	94 %
Pomme	14,14	5,3	62 %
Orange (pH 6,5)	8,17	3,53	57 %
Datte avec orange	188,55	18,86	85,95 %
Orange avec son écorce	32,66	20,54	37,10 %
Ecorce d'orange	11,38	0,20	94,74 %

D'après les résultats présente dans le tableau 7 nous avons remarqué une diminution importante de la quantité des sucres réducteurs dans les mouts des déchets après la fermentation, ce qui explique par la dégradation de ces derniers par la levure pour produire des molécules plus simples (éthanol). De plus, les figure 13 et 14 montrent une diminution des valeurs de pH avec une libération du gaz carbonique durant la période de fermentation. Ce qui traduit par la production de bioéthanol.

Nous avons observé après 9 jours de fermentation dans échantillons de pomme, orange (6,5) et orange avec son écorce que les sucres n'ont pas été consommés totalement par la levure, cela peut être dû à l'arrêt de la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* par l'accumulation des substances toxiques (Boulal *et al.*, 2010), ce qui indique que les acides gras formés par la levure deviennent toxiques pour cette dernière, aussi l'effet de l'alcool dans le milieu devient inhibiteur.

D'après les pourcentages des teneurs en sucres réducteurs consommés pendant la fermentation, nous pouvons conclure que la variabilité de ces teneurs dans les moûts des déchets dépend de plusieurs facteurs, tels que la nature de matière première utilisée, la quantité de levure ajoutée et le pH du milieu.

#### 4.2.3 Atténuation

L'évolution du taux de sucre des mouts des déchets prélever pendant la fermentation alcoolique sont montrer dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Atténuation des mouts des déchets.

<b>Déchets utilisés</b>	<b>Taux de sucre avant la fermentation (°Brix)</b>	<b>Taux de sucre après la fermentation (°Brix)</b>	<b>Atténuation (%)</b>
Orange (pH 4,9)	13	7	46,15
Betterave	8,25	4,5	45,45
Pomme	7	4	42,85
Orange (pH 6,5)	12	6	50
Datte avec orange	18,75	10,75	42,66
Orange avec écorce	12	6,5	45,83
Ecorce d'orange	10,25	7,1	30,73

Le °Brix reste en diminution jusqu'à la fin de la fermentation dans tous les mouts. Le rendement de la fermentation est élevé dans l'orange de (pH 4,9) et (pH 6,5) qui a atteint respectivement 46,15 % et 50 %, ainsi que la betterave 45,45 %, les pommes 42,85 %, les dattes avec l'orange 42,66 %, l'écorce 30,73 % et l'orange avec écorce 45,83 %. Ce qui explique par la biodégradation des solides solubles (sucre) et transformées sous forme des molécules simple (éthanol) par la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

### 4.3 Analyse de produit final

Dans cette partie, nous exposons les résultats de l'analyse physiques des distillats alcoolique obtenus à partir des différents déchets afin d'évaluer la qualité de nos produits.

#### 4.3.1 Indice de réfraction

L'indice de réfraction est une grandeur physique qui mesure la capacité d'un matériau à dévier ou à ralentir la propagation de la lumière lorsqu'elle le traverse (Hecht, 2017). Les résultats de l'indice de réfraction des distillats obtenus sont indiqués dans le tableau 9.

**Tableau 9.** Résultats de l'analyse de l'indice de réfraction.

<b>Distillats</b>	<b>Indice de réfraction</b>
Orange de 2 g/l de levure	1,366
Orange de 5 g/l de levure	1,366
Orange de 10 g/l de levure ( pH 4,9)	1,365
Orange de 10 g/l de levure (pH 6,5)	1,357
Betterave de 2 g/l de levure	1,365

Betterave de 5 g/l de levure	1,366
Betterave de 10 g/l de levure	1,364
Pomme de 10 g/l de levure	1,360
Datte avec orange de 10 g/l de levure	1,357
Orange avec son écorce de 10 g/l de levure	1,348
Ecorce d'orange de 10 g/l de levure	1,344

L'indice de réfraction des distillats obtenus sont variant de 1,344 à 1,366 à 20°C. Nous constatons que les valeurs de l'indice de réfraction de distillat alcoolique d'orange, betterave, pomme et de dattes avec orange sont très proches de la valeur de l'indice de réfraction de l'éthanol absolu (1,362) (Chibi et El-Hadi, 2018), tandis que les valeurs de l'orange avec son écorce et de l'écorce d'orange sont inférieures à la valeur de l'éthanol absolu, ce qui peut être attribué à la présence d'eau dans le milieu. Donc la concentration d'éthanol dans les distillats d'orange, de betterave, de pomme et de dattes avec orange est probablement supérieures, tandis que la concentration d'éthanol dans les distillats d'orange avec son écorce et écorce d'orange sont peut-être inférieures.

#### 4.3.2 Analyse infrarouge

L'éthanol est une molécule qui contient plusieurs groupes fonctionnels, chacun produisant des pics d'absorption infrarouge caractéristiques. Les pics d'infrarouge des distillats alcoolique et l'éthanol à 96 ° sont représentés dans les figures (15 à 25) et les principaux pics sont montrés dans les tableaux (10 à 20).

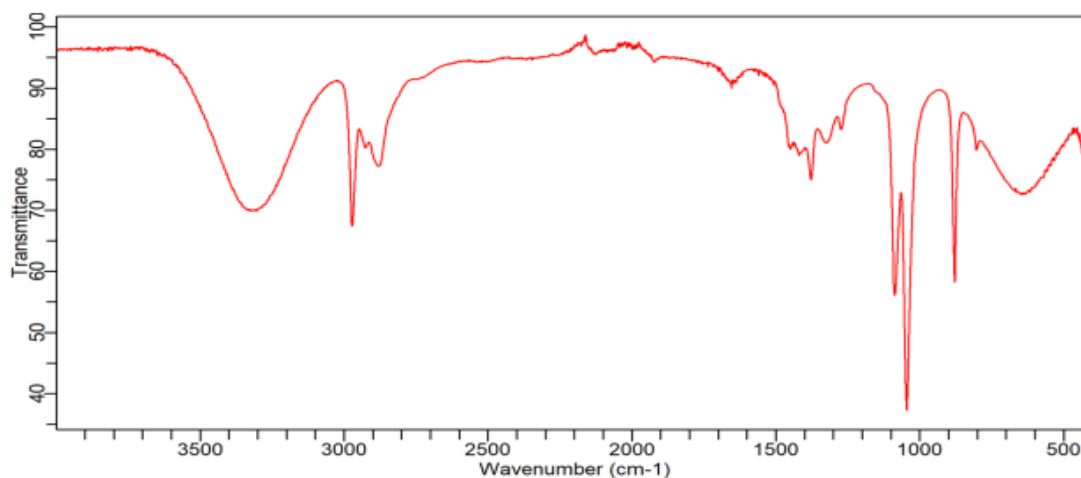
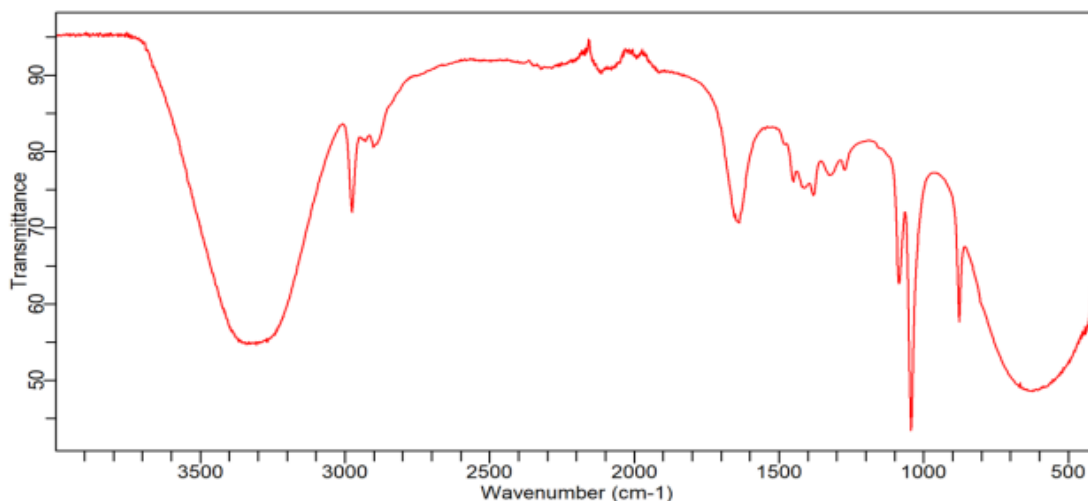


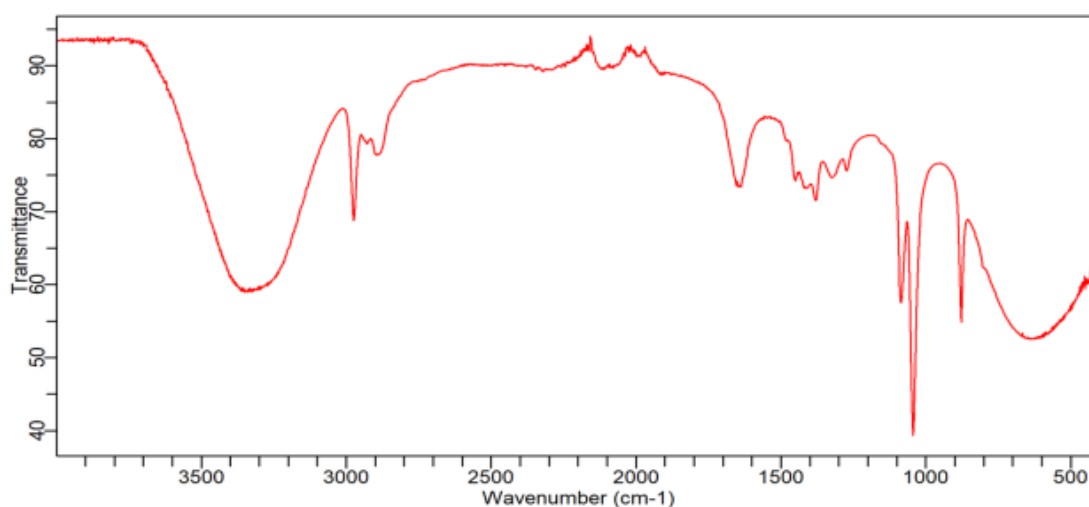
Figure 15. Spectre infrarouge de l'éthanol de 96°.

**Tableau 10.** Principaux pics d'infrarouge d'éthanol de 96°.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison OH liée
02	3000	Liaison C-H
03	1050	Liaison C-O

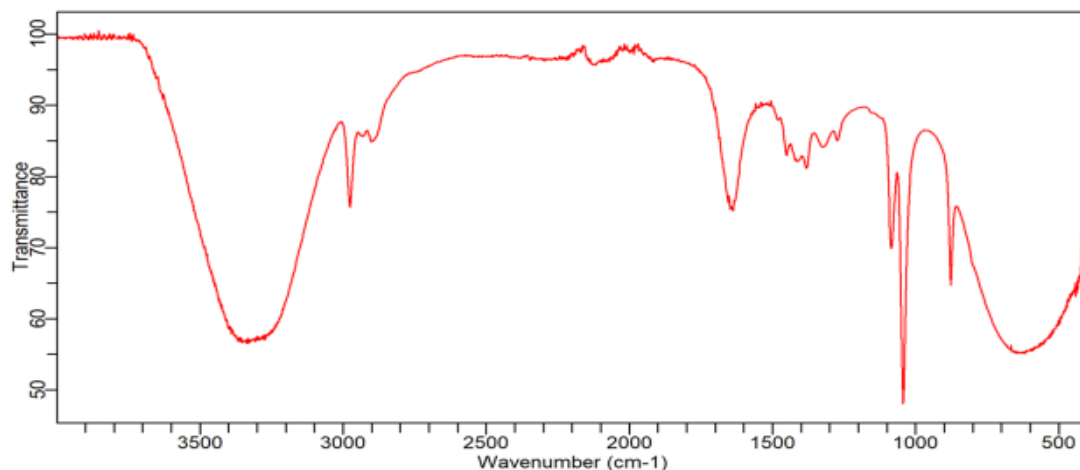
**Figure 16.** Spectre infrarouge de bioéthanol produit par betterave de 2 g/l de levure.**Tableau 11.** Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 2 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison OH liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	Liaison C-O

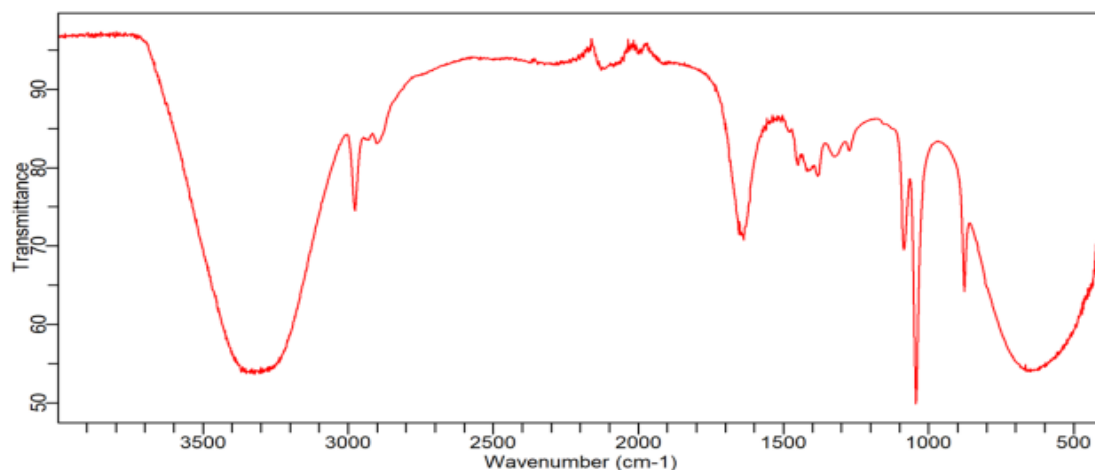
**Figure 17.** Spectre infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 5 g/l de levure.

**Tableau 12.** Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 5 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison OH liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	Liaison C-O

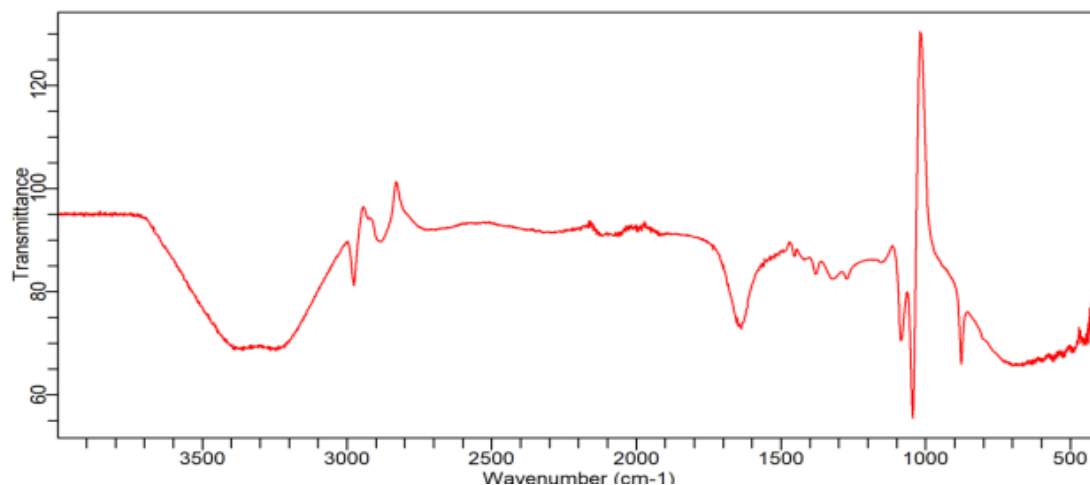
**Figure 18.** Spectre infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 10 g/l de levure.**Tableau 13.** Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par la betterave de 10 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison O-H liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	Liaison C-O

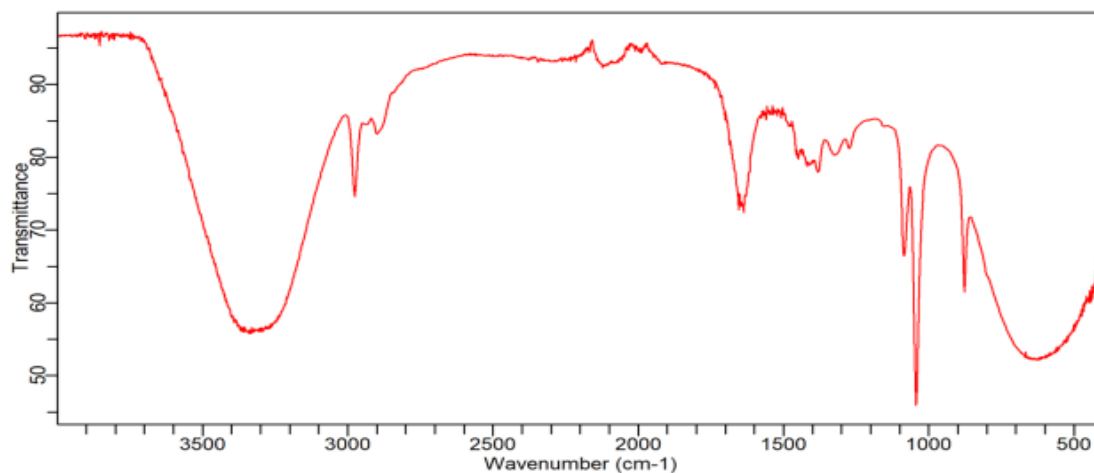
**Figure 19.** Spectre infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 2 g/l de levure.

**Tableau 14.** Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 2 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison O-H liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	Liaison C-O

**Figure 20.** Spectre infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 5 g/l de levure.**Tableau 15.** Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 5 g/l de levure.

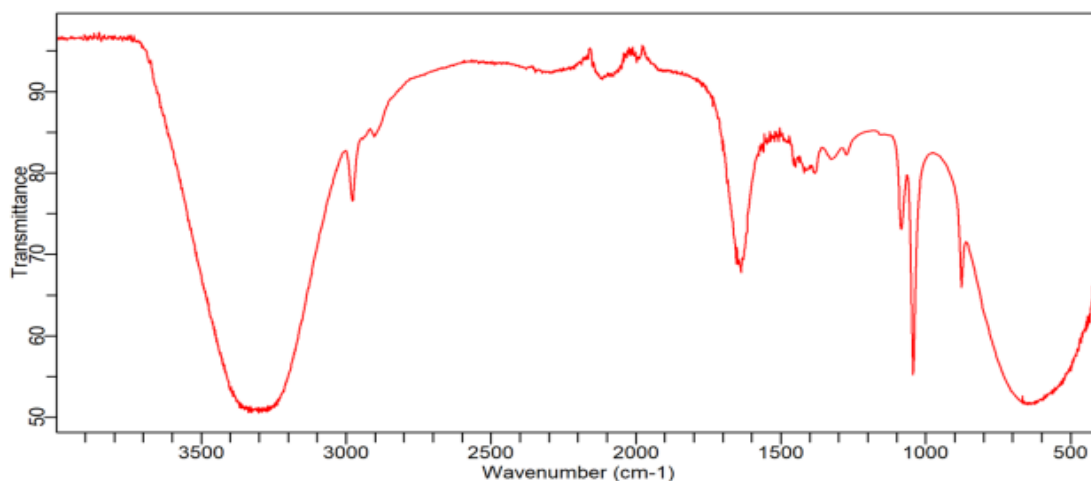
Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison O-H liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	2900	Liaison C-H
04	1650	Liaison C=O des amides
05	1050	Liaison C-O

**Figure 21 .** Spectre infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 10 g/l de levure.

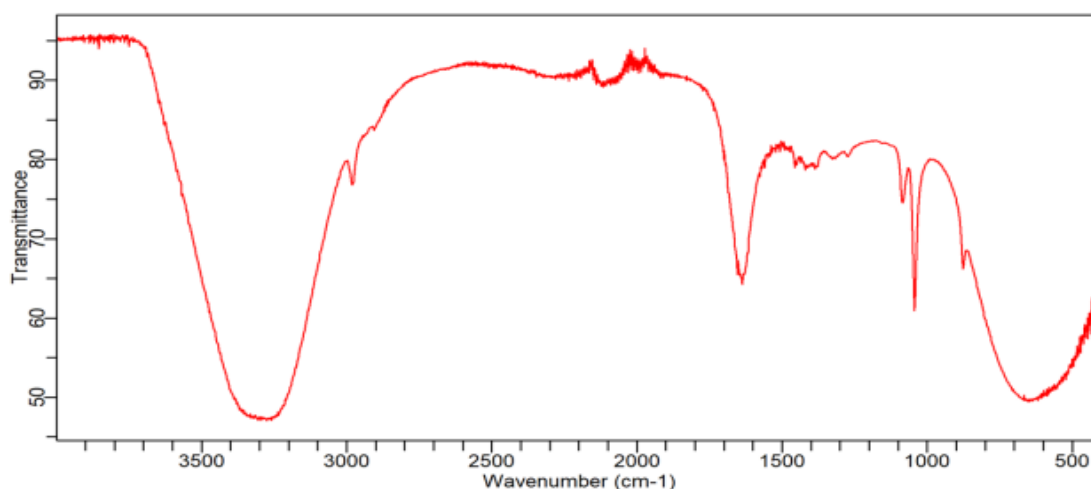


**Tableau 16.** Principaux pics d'infrarouge de bioéthanol produit par l'orange de 10 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison O-H liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	Liaison C-O

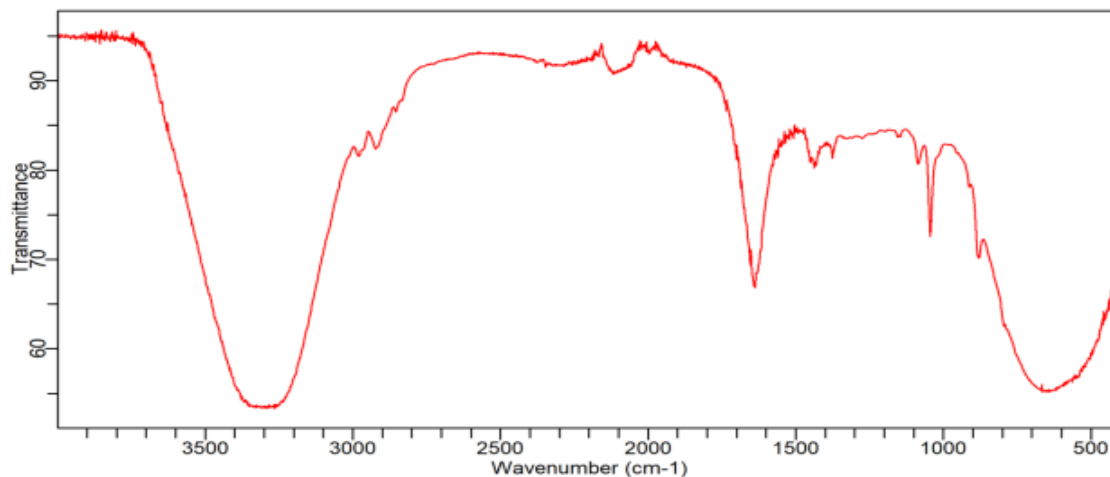
**Figure 22.** Spectre infrarouge de datte avec l'orange de 10 g/l de levure.**Tableau 17.** Principaux pics d'infrarouge de dattes avec l'orange de 10 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison O-H liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	Liaison C-O

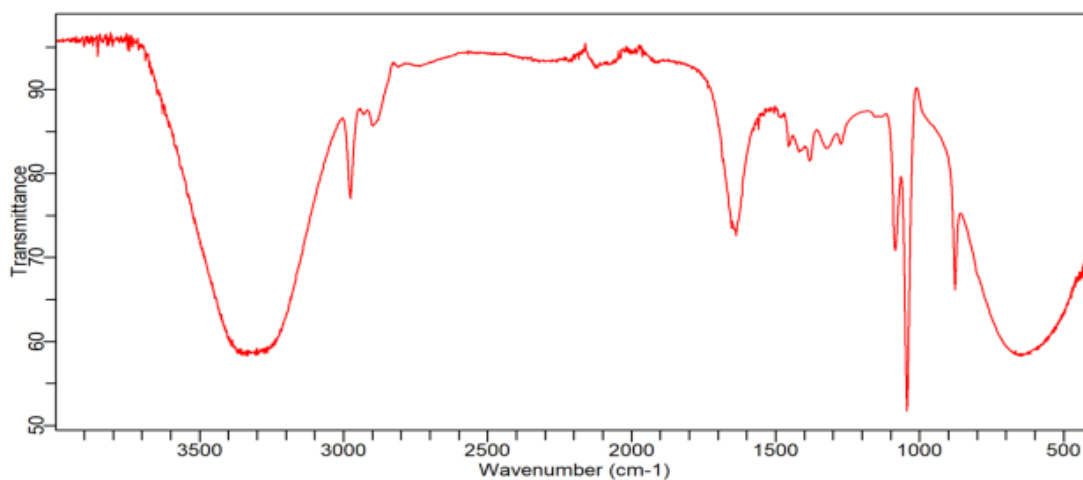
**Figure 23.** Spectre infrarouge de l'orange avec écorce de 10 g/l de levure.

**Tableau 18.** Principaux pics d'infrarouge de l'écorce d'orange de 10 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison O-H liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	Liaison C-O

**Figure 24.** Spectre infrarouge d'écorce d'orange de 10 g/l de levure.**Tableau 19.** Principaux pics d'infrarouge d'écorce de 10 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison O-H liée (liaison hydrogène)
02	2900	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	Liaison C-O

**Figure 25.** Spectre infrarouge de pomme de 10 g/l de levure.

**Tableau 20.** Principaux pics d'infrarouge de pomme de 10 g/l de levure.

Pics	Bande de vibration (cm <sup>-1</sup> )	Groupements
01	3300	Liaison O-H liée (liaison hydrogène)
02	3000	Liaison C-H
03	1650	Liaison C=O des amides
04	1050	C-O

Dans chaque échantillon analysé, ces pics ont été marqués à chaque spectre

Un pic a été marqué pour tous les échantillons autour de 3300 cm<sup>-1</sup> est dû à la vibration de l'hydroxyle O-H de l'éthanol, cela correspond à une indication de la présence d'un groupe alcool. Un pic autour de 2900\_3000 cm<sup>-1</sup> est dû aux vibrations de la liaison C-H des groupes méthyle et méthylène (-CH<sub>3</sub> et -CH<sub>2</sub>-) de l'éthanol. Un pic vers 1050 cm<sup>-1</sup> est dû à la vibration de la liaison C-O présente dans les alcools. Ce pic peut être utilisé pour identifier la présence d'un groupe éther dans la molécule. Un pic fort vers 1650 cm<sup>-1</sup> est dû à la vibration de liaison C=O des amides peut être le résultat de la contamination par des substances provenant de différentes sources. Les résultats ont été d'accord avec celui de (Boulal *et al.*, 2018 ; Boulal *et al.*, 2019) qui ont également identifié les mêmes pics dans leurs analyses de distillats alcooliques sauf les pics des amides.

En plus de ces pics, d'autres pics plus faibles peuvent également être présents dans le spectre infrarouge de l'éthanol, qui correspond à d'autres modes de vibration moléculaire. Cependant, l'identification précise des pics nécessite une connaissance approfondie de la structure moléculaire de l'échantillon. Malgré la présence de ces bandes de base caractéristiques à l'éthanol, il existe des différences entre les spectres dans la hauteur, la largeur et l'uniformité des pics à cause de la différence de pureté entre les spectres des échantillons et de référence (éthanol 96°).

### 4.3.3 Analyse UV-vis de bioéthanol obtenue

D'après les analyses de UV –Visible effectué à chaque échantillon avec l'éthanol standard 96° d'une longueur d'onde de 200-800 nm.

L'absorbance dans les échantillons de betterave 2, 5,10 g/l de levure, orange 2, 5,10 g/l de levure, datte avec orange, orange avec son écorce, écorce d'orange et pomme est supérieur par rapport à l'éthanol de 96° qui est caractérisé par une longueur d'onde de 199,993 nm et une absorbance de 1,88 , mais il y a un pic dans l'échantillon d'orange de 10 g/l de levure ,datte avec orange, orange avec son écorce inférieur à l'éthanol standard 96° qui est caractérisé par

une longueur d'onde de 232,015 et une absorbance de 1,50. Cela implique que l'absorption est influencée par la concentration d'éthanol ainsi que par la nature des composés présents dans les échantillons tels que les acides, les vitamines et les pigments, qui sont sensibles à l'oxydation, à la lumière et à la chaleur (Korumilli et Mishra, 2014).

#### 4.4 Teste d'efficacité antimicrobienne de bioéthanol

Après avoir testé la sensibilité des souches cliniques vis à vis nos produits à partir de différents déchets agricoles. Les résultats sont montrés dans les tableaux 21, 22, 23, 24, 25, 26.

**Tableau 21.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par la betterave de 2, 5, 10 g/l.

Echantillons	Type de méthode	Solution	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Betterave avec 2 g/l de levure	Disque	T	12 mm	13 mm	14 mm	12mm
		Sm	Halo (-)	9 mm	6 mm	6mm
		½	Halo (-)	Halo (-)	8 mm	6 mm
		¼	Halo (-)	Halo (-)	7 mm	6 mm
	Puits	T	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
Betterave avec 5 g/l de levure	Disque	Sm	Halo (-)	Halo (-)	6 mm	Halo (-)
		½	6 mm	Halo (-)	7 mm	6 mm
		¼	6 mm	Halo (-)	6 mm	6 mm
	Puits	Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
Betterave avec 10 g/l de levure	Disque	Sm	6 mm	10 mm	Halo (-)	6 mm
		½	Halo (-)	8 mm	Halo (-)	6 mm
		¼	Halo (-)	7 mm	Halo (-)	6 mm
	Puits	Sm	Halo (-)	11 mm	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	9 mm	Halo (-)

**Tableau 22.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par la pomme de 10 g/l de levure.

Echantillons	Type de méthode	Solution	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Pomme avec 10 g/l de levure	Disque	Sm	8 mm	9 mm	7 mm	Halo (-)
		½	6 mm	Halo (-)	7 mm	6 mm
		¼	6 mm	Halo (-)	Halo (-)	6 mm
	Puits	Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)

**Tableau 23.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par l'orange de 2, 5,10 g/l de levure.

Echantillons	Type de méthode	Solution	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Orange avec 2 g/l de levure	Disque	Sm	Halo (-)	9 mm	6 mm	6 mm
		½	Halo (-)	Halo (-)	8 mm	6 mm
		¼	Halo (-)	Halo (-)	7 mm	6 mm
	Puits	Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
Orange avec 5 g/l de levure	Disque	Sm	Halo (-)	Halo (-)	6 mm	Halo (-)
		½	6 mm	Halo (-)	6 mm	6 mm
		¼	6 mm	Halo (-)	6 mm	6 mm
	Puits	Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
Orange avec 10 g/l de levure (pH 4,9)	Disque	Sm	6 mm	10 mm	Halo (-)	6 mm
		½	Halo (-)	8 mm	Halo (-)	6 mm
		¼	Halo (-)	7 mm	Halo (-)	6 mm
	Puits	Sm	Halo (-)	11 mm	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	9 mm	Halo (-)
Orange avec 10 g/l de levure	Disque	Sm	12 mm	11 mm	9 mm	Halo (-)
		½	7 mm	8 mm	7 mm	6 mm
		¼	6 mm	8 mm	Halo (-)	6 mm

levure (pH 6,5)		Puits	Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
			½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
			¼	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)

**Tableau 24.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par dattes avec orange de 10 g/l de levure.

Echantillons	Type de méthode	Solution	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Datte avec l'orange avec 10 g/l de levure	Disque	Sm	Halo (-)	Halo (-)	6 mm	6 mm
		½	6 mm	Halo (-)	6 mm	6 mm
		¼	6 mm	Halo (-)	6 mm	Halo (-)
	Puits	Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)

**Tableau 25.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par orange avec écorce de 10 g/l de levure.

Echantillons	Type de méthode	Solution	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Orange avec écorce	Disque	Sm	Halo (-)	6 mm	7 mm	6 mm
		½	Halo (-)	6 mm	9 mm	6 mm
		¼	Halo (-)	6 mm	9 mm	6 mm
	Puits	Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)
		¼	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)	Halo (-)

**Tableau 26.** Teste d'efficacité antimicrobienne vis à vis de bioéthanol produit par écorce d'orange de 10 g/l de levure.

Echantillons	Type de méthode	Solution	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Ecorce d'orange	Disque	Sm	Halo (-)	Halo (-)	6mm	6 mm
		½	Halo (-)	Halo (-)	6mm	6 mm
		¼	Halo (-)	Halo (-)	6mm	Halo (-)
	Puits	Sm	Halo (-)	Halo (-)	Halos (-)	Halo (-)
		½	Halo (-)	Halo (-)	Halos (-)	Halo (-)

---

¼	Halo (-)	Halo (-)	Halos (-)	Halo (-)
---	----------	----------	-----------	----------

---

Le bioéthanol, bien qu'il soit le produit final de la fermentation, peut devenir un facteur de stress pour les micro-organismes lorsqu'il s'accumule dans leur environnement. Il est connu pour son effet inhibiteur sur la croissance des micro-organismes, il a un effet d'encombrement structurale, car il peut traverser leur membrane cellulaire et perturber leurs processus métaboliques, ce qui limite leur capacité à se développer (Chibi, 2020).

La présente étude a permis d'évaluer l'efficacité antimicrobienne des produits finaux sur *E coli*, *S aureus*, *K pneumoniae* et *P aeruginosa* en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.

Les résultats montrent que les différents produits obtenus induisent des inhibitions de croissance des germes testés. Le bioéthanol de pomme, d'orange avec 10 g/l de levure de (pH 4,9, 6,5) et de betterave avec 10 g/l de levure semble être les produits les plus actives sur l'ensemble des bactéries testées.

Le bioéthanol produit par les dattes avec orange, betterave avec 5 g/l de levure et l'orange avec 5 g/l de levure induisent des inhibitions remarquables sur la croissance de *E coli*, *S aureus* et *P aeruginosa* tandis que *K pneumoniae* a été résisté à ces dernières.

Ainsi que, le bioéthanol produit par la betterave de 2 g/l de levure et orange avec écorce sont actifs sur *S aureus*, *K pneumoniae* et *P aeruginosa* mais n'induisent aucun effet sur *E. coli*.

Le distillat de l'écorce semble être le produit le moins actif de tous les échantillons testés quoique actif sur *S aureus* et *P aeruginosa*.

Nous avons observé que le bioéthanol produit par différentes matières premières à des effets proches de l'éthanol synthétique de 96 %. Donc nous avons validé l'utilisation de ces produits dans la désinfection contre les germes pathogènes.

#### 4.5 Caractéristiques physico-chimiques de produits finals

D'après les analyses physico-chimiques de nos échantillons le tableau 28 résumé les Caractéristiques physico-chimiques des produits finals.

**Tableau 27.** Caractéristiques physico-chimiques des produits finaux.

<b>Paramètre physico-chimique</b>	<b>Indice de réfraction</b>	<b>Rendement</b>	<b>Odeur</b>	<b>Couleur</b>	<b>Inflammabilité</b>
Ethanol absolu	1,361	—	Piquante	Incolore	Inflammable
Orange de 2 g/l de levure	1,366	43,63 ml/l	Piquante	Incolore	Inflammable
Orange de 5 g/l de levure	1,366	34,54 ml/l	Piquante	Incolore	Inflammable
Orange de 10 g/l de levure (pH 4,9)	1,365	36,36 ml/l	Piquante	Incolore	Inflammable
Orange de 10 g/l de levure (pH 6,5)	1,356	70 ml/kg	Piquante	Incolore	Inflammable
Betterave de 2 g/l de levure	1,365	15,54 ml/kg	Piquante	Incolore	Inflammable
Betterave de 5 g/l de levure	1,366	45,44 ml/kg	Piquante	Incolore	Inflammable
Betterave de 10 g/l de levure	1,364	15,54 ml/kg	Piquante	Incolore	Inflammable
Pomme de 10 g/l de levure	1,360	85,25 ml/kg	Piquante	Incolore	Inflammable
Datte orange de 10 g/l de levure	1,3579	331,20 ml/kg	Piquante	Incolore	Inflammable
Orange avec écorce de 10 g/l de levure	1,348	—	De fermentation	Incolore	Non inflammable
Ecorce d'orange de 10 g/l de levure	1,344	—	De fermentation	Incolore	Non inflammable

D'après les comparaisons effectuées nous pouvons affirmer que nos résultats concernant la production de bioéthanol sont très acceptables et que le bioéthanol obtenu à partir de divers déchets est proche de l'éthanol absolu. En outre, d'après les témoignages de dix personnes nos produits présentent les caractéristiques suivantes : volatiles, inflammables (sauf l'orange avec son écorce et écorce d'orange), limpides et dégagent une odeur piquante.



# **Conclusion**

---

## Conclusion

Notre travail consiste à générer du bioéthanol par la fermentation alcoolique en employant *Saccharomyces cerevisiae*. Pour accroître l'efficacité de production d'éthanol, nous avons réalisées des améliorations au niveau de la composition du milieu de fermentation en termes de nutriments (source de carbone, source minéraux...etc.), du choix du microorganisme producteur, ainsi que des conditions optimales de fermentation.

Le présent travail a montré que la valorisation des déchets agricoles de faible valeur commerciale en vue de leur transformation en éthanol est possible avec des rendements très encourageants atteint jusqu'à 130 ml/kg pour les dattes avec l'orange qui a un indice de réfraction très proche à l'éthanol absolu 1,364.

Le pH joue un rôle crucial dans l'amélioration de l'activité de fermentation de la levure. Un intervalle de pH compris entre 3,5 et 5,1 est particulièrement favorable à la prolifération des levures et à la production de bioéthanol. Alors que l'effet de l'agitation dans les conditions de notre laboratoire est un paramètre qui ralentit la production de bioéthanol.

L'atténuation et le taux de sucre réducteur des échantillons montrent une diminution durant la fermentation avec des proportions déférents ce qui signifie que l'activité de la levure dépend de la qualité de matière biologique utilisé.

L'analyse infrarouge des échantillons montre la présence des groupements CH, OH, CO. Bien que, les analyses de l'activité antimicrobienne sur les souches bactérienne clinique vis-à-vis les produits de chaque déchet montrent qu'il y a une activité inhibitrice sur la croissance des microorganismes

Les résultats encourageants obtenus à partir la fermentation des dattes avec orange suggèrent qu'il est intéressant d'explorer d'avantage l'effet de la combinaison de l'acidité avec les sucres sur le rendement de bioéthanol. Cela pourrait ouvrir la voie à des nouvelles stratégies pour améliorer l'efficacité de production de bioéthanol à partir de ces matières premières.

Le travail réalisé a atteint son objectif, en démontrant la possibilité de produire du bioéthanol à partir des matières premières utilisées. Les caractéristiques physico-chimiques des produits obtenus, les rend compatibles avec une utilisation pratique. De plus, cette méthode présente l'avantage d'être entièrement biologique, ce qui la rend respectueuse de l'environnement.

Cependant, il convient de noter qu'une étape de vérification de la pureté des échantillons, telle que l'utilisation de technique de chromatographie sur colonne, n'a pas été effectuée dans cette étude. Cette étape aurait permis d'analyser plus précisément la composition et la pureté du bioéthanol produit.

En ce qui concerne les perspectives, les éléments suivants peuvent être envisagés à la suite de cette étude : la modification des microorganismes utilisés, amélioré les conditions de fermentation ( quantité de levure, pH, matière première utilisé), utilisation de dispositifs sophistiqués pour améliorer la production de bioéthanol dans des conditions optimales, application de techniques plus performantes (telles que l'HPLC, la CPG et la GC-MS...) pour la détection et la quantification de l'éthanol, la distillation peut être améliorée en utilisant des techniques modernes et plus efficaces pour purifier le distillat.

# **Listes des références**

- Armentano L. E.* 2007. Répercussions de l'industrie de l'éthanol sur l'alimentation des vaches au moindre coût. 31<sup>e</sup> Symposium sur les bovins laitiers, Canada, 21 p.
- Ballerini D.* 2011. Les biocarburants : Répondre aux défis énergétiques et environnementaux des transports. Editions TECHNIP. Paris, France. 372p.
- Boulal A., Benali B., Moulai M., Touzi A.* 2010. Transformation des déchets de dattes de la région d'Adrar en bioéthanol, *Revue des Energies Renouvelables*, 13 (3) : 455 – 463.
- Boulal A.* 2017. Contribution à l'étude de la microflore des dattes conservées par des méthodes traditionnelles (Btana), et valorisation des dattes de faible valeur marchande. Thèse de doctorat, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella, Oran, 183 p.
- Boulal A., Khelafi M., Kaidi K.* 2018. Procède expérimentales sur la production de bioéthanol de deuxième génération à partir des sous-produits des palmiers dattiers. *Revue des Energies Renouvelables SIENR'18*, Ghardaïa, 63 – 69.
- Boulal A., Khelafi M., Messaadi A H.* 2019. Production du bioéthanol à partir des déchets de dattes d'Adrar et Tolga (Biskra) : Etude comparative. 1(1): 20-27.
- Chen F., Xiong S., Latha Gandla M., Stagge S., Martín C.* 2022. Spent mushroom substrates for ethanol production-Effect of chemical and structural factors on enzymatic saccharification and ethanolic fermentation of *Lentinula edodes*-pretreated hardwood. *Bioresource Technology*, 347, 126381.
- Chibane I., Ghoubal R.* La bio-production d'éthanol par *Saccharomyces cerevisiae* cultivé sur milieu à base de déchets de dattes. Mémoire de master, Université L'Arbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi, p13.
- Chibi S., El Hadi D.* 2018. La bio-production de l'éthanol à partir de dattes : effet de l'incorporation des cendres du noyau de deglet- nour sur le rendement. *Revue Agrobiologia*, 8(1) : 685-694.
- Chniti S.* 2015. Optimisation de la bioproduction d'éthanol par valorisation des refus de l'industrie de conditionnement des dattes. Thèse de doctorat, Université Rennes 1, Français, 210 p.
- Cot M.* 2006. Etudes physiologiques de l'adaptation et de la résistance de la levure *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la production intensive d'éthanol. Thèse de doctorat d'état, département de Génie Biochimique et Alimentaire, Toulouse, 265 p.
- Chibi S.* 2020. Contribution à la valorisation et la caractérisation des sous-produits de dattes dans la production de bioéthanol. Thèse de doctorat, Toulouse, 265 p.
- Dashko S., Zhou N., Compagno C., Piškur J.* 2014. Why, when, and how did yeast evolve alcoholic fermentation. 14(6): 826-832.

- Dien B. S., Cotta M. A., Jeffries T. W.* 2003. Bacteria engineered for fuel ethanol production : Current status. *Microbiology and Biotechnology*, 63(3) : 258-266.
- Duchemin R.* 1907. La dénaturation de l'alcool en France et dans les principaux pays d'Europe. Science Center Library, Paris, 264 p.
- Fazzino F., Mauriello F., Paone E., Sidari R., Calabrò P. S.* 2021. Integral valorization of orange peel waste through optimized ensiling: Lactic acid and bioethanol production. *Chemosphere*, 271, 129602.
- Hecht E.* 2017. Optics 5th ed. Pearson Education. 730 p.
- Institut national de recherche et de sécurité (INRS). 2019. Éthanol, (Fiche toxicologique n°48).
- Jacques K A., Lyons T P., Kelsall D R.* 2003. The alcohol textbook a reference for the beverage, fuel and industrial alcohol industries, 4th Edition. Nottingham University, p106.
- Kaidi F., Touzi A.* 2001. Production de bioalcool à partir des déchets de dattes. *Revue des Energies Renouvelables*, NS : Production et Valorisation – Biomasse, p 75-78.
- Laour A.* 2020. Caractérisation physicochimique et microbiologique de deux variétés de dattes "Hmira, Feggous" et production de bioéthanol à partir de rebuts de dattes « Hmira ». Thèse de doctorat, Université Tahri Mohamed, Béchar, Algérie, p36.
- Lin Y., Zhang W., Li C., Sakakibara K., Tanaka S., Kong H.* 2012. Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742, Meisei University, Tokyo 191-8506, Japan, p 398.
- Locquin M.* 1942. Méthode pratique pour l'obtention et l'économie de l'alcool absolu. Publications de la Société Linnéenne de Lyon, 11(6) : 95-96.
- Louis E., Armentano Ph. D.* 2007. Répercussions de l'industrie de l'éthanol sur l'alimentation des vaches au moindre coût. 31<sup>e</sup> Symposium sur les bovines laitier, University of Wisconsin- Madison, Canada.
- Maarouf A A.* 2020. Production de bioéthanol à partir d'une biomasse lignocellulosique multi-ressources locale par prétraitement Organosolv et hydrolyse enzymatique, Thèse de doctorat, Université Clermont Auvergne, France, p 47.
- Maehara T., Ichinose H., Furukawa T., Ogasawara W., Takabatake K., Kaneko S.* 2013. Ethanol production from high cellulose concentration by the basidiomycete fungus *Flammulina velutipes*. *Fungal Biology* 117(3): 220-226.
- Mohd Azhar S. H., Abdulla R., Jambo S. A., Marbawi H., Gansau J. A., Mohd Faik A. A., Rodrigues K. F.* 2017. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 10: 52-61.

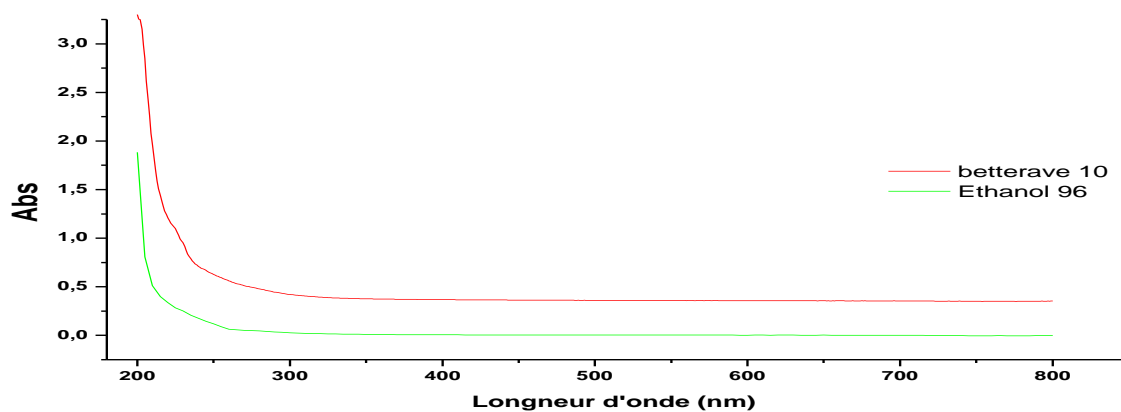
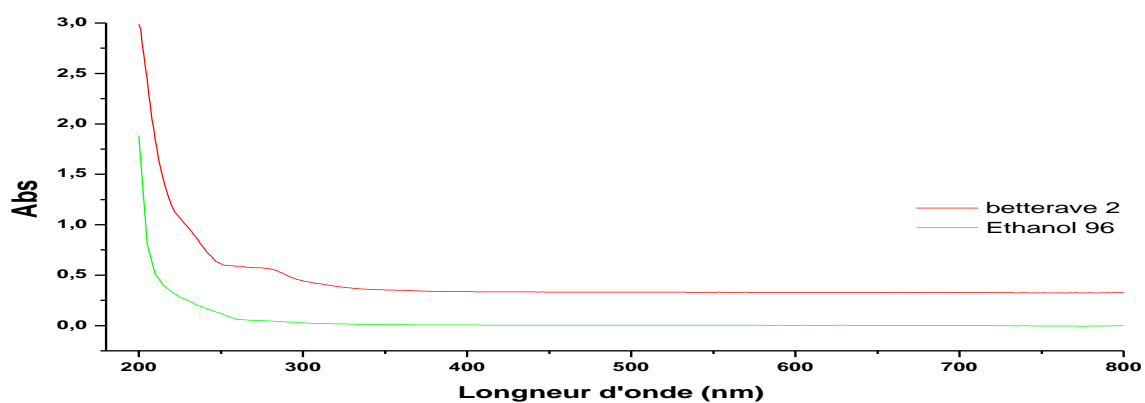
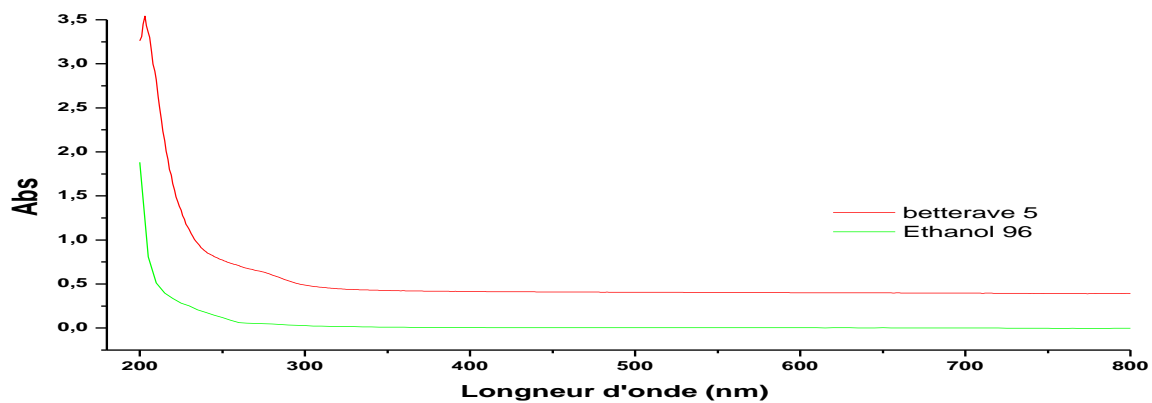
- M Ould A., Drouillard I., Fourel D., Caroff P., Guiavarch M.*, 2000. Découverte fortuite d'une intoxication au méthanol lors d'un état d'ébriété. 19 (3) : 198-201.
- Onyekwelu K. C.* 2019. Ethanol. In *Psychology of Health—Biopsychosocial Approach*. IntechOpen, 15 p.
- Organisation des nations unies pour le développement industriel (ONUUDI). 2023. Ouvrir l'économie de bioéthanol, 90 p.
- Peña A., Sánchez N. S., Álvarez H., Calahorra M., Ramírez J.* 2015. Effects of high medium pH on growth, metabolism and transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 15(2).
- Randriamahefa N. R., Andriamifidisoa M.V., Ravoninjatovo A. O., Rasoanaivo J. L., Andrianaivo L.* 2021. Production de bioéthanol à partir de la betterave : cas de la « *Metallica Chenopodiaceae* » De Madagascar, 29 (2) : 626-642.
- Ravoninjatovo A. O., Andrianaivo I., Rasoanaivo J. L.* 2021. Production d'éthanol à partir des déchets de pasteurisation de jus de fruits tropicaux. Cas de la société madagascar premium exotica (mpe) toamasina, 10 : 115 p.
- Razmovski R., Vučurović V.* 2012. Bioethanol production from sugar beet molasses and thick juice using *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on maize stem ground tissue. *Fuel*, 92(1) : 1-8.
- Saini S., Chandel A. K., Sharma K. K.* 2020. Past practices and current trends in the recovery and purification of first generation ethanol : A learning curve for lignocellulosic ethanol. *Journal of Cleaner Production*, 268, 122357.
- Schwob Y.* 1978. Le méthanol et l'éthanol. matières premières pour l'industrie chimique. 253: 29-33.
- Shinnosuke Onuki., Jacek A Koziel., J. (Hans) van Leeuwen., William S Jenks., David Grewell., Lingshuang Cai.* 2008. Ethanol production, purification, and analysis techniques : A review. Rhode Island Convention Center, 11 p.
- Siladitya B., Subhajit G., Fahad A., Saayak S., Sritoma B.* 2012. Uv-visible spectrophotometric method development and validation of assay of paracetamol tablet formulation. *Journal of UoJ Analytical et Bioanalytical Techniques*, West Bengal, India, p 6.
- Sorel E.* 1894. La rectification de l'alcool. Gauthier-Villars et fils, Paris, 116 p.
- Varela J., Varela C.* 2019. Microbiological strategies to produce beer and wine with reduced ethanol concentration. *Current Opinion in Biotechnology*, 56: 88-96.
- Walker G. M., Walker R. S. K.* 2018. Enhancing yeast alcoholic fermentations. In *Advances in Applied Microbiology*, 105: 87-129.

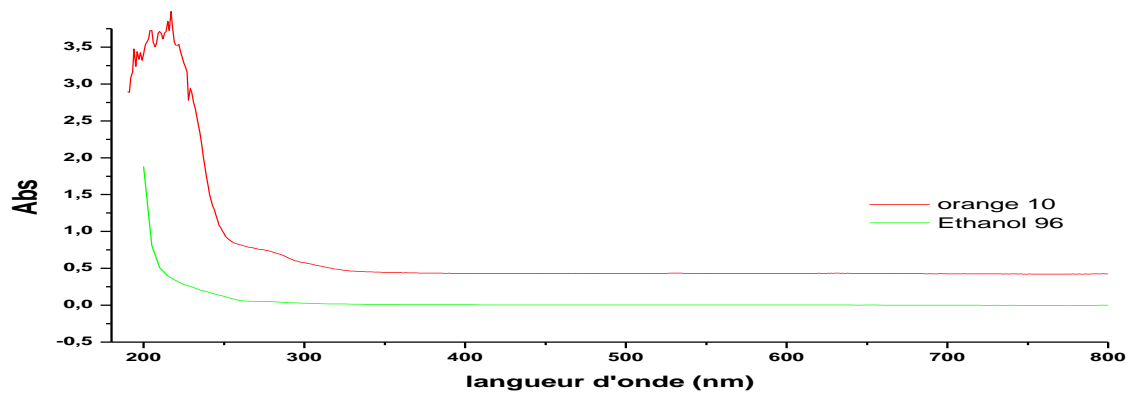
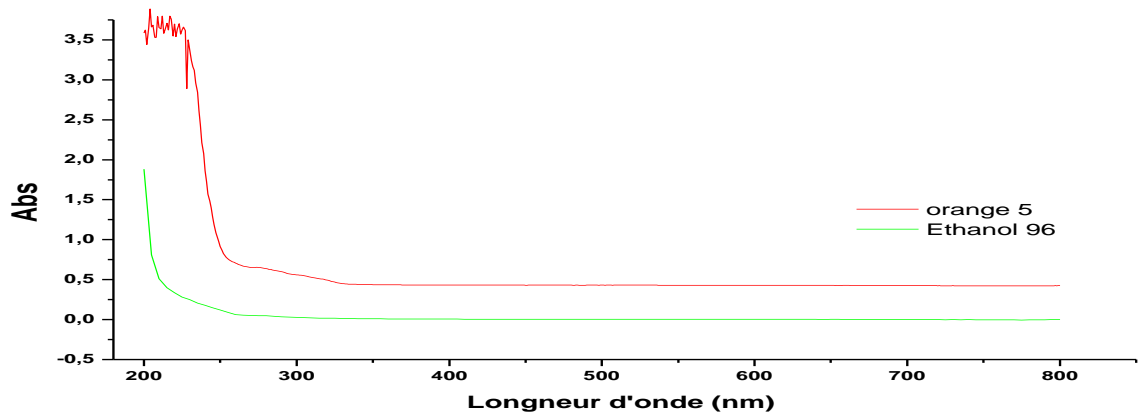
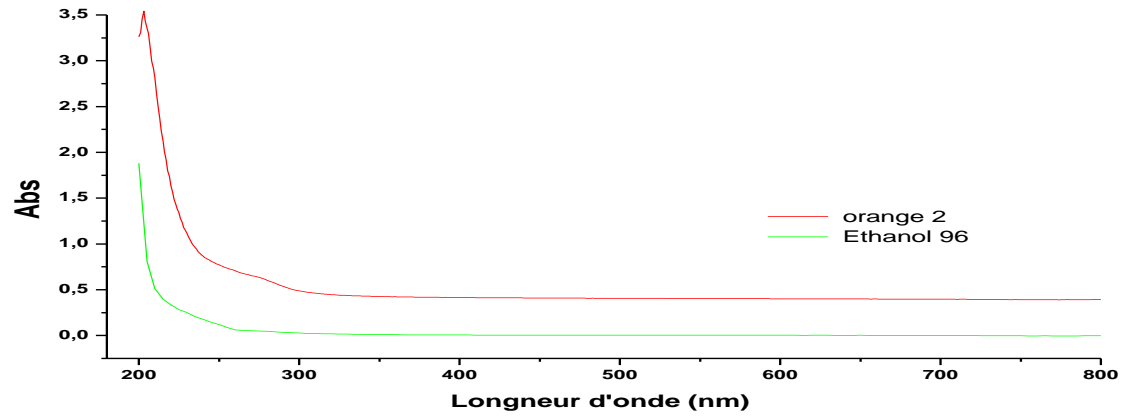
# **Annexe**

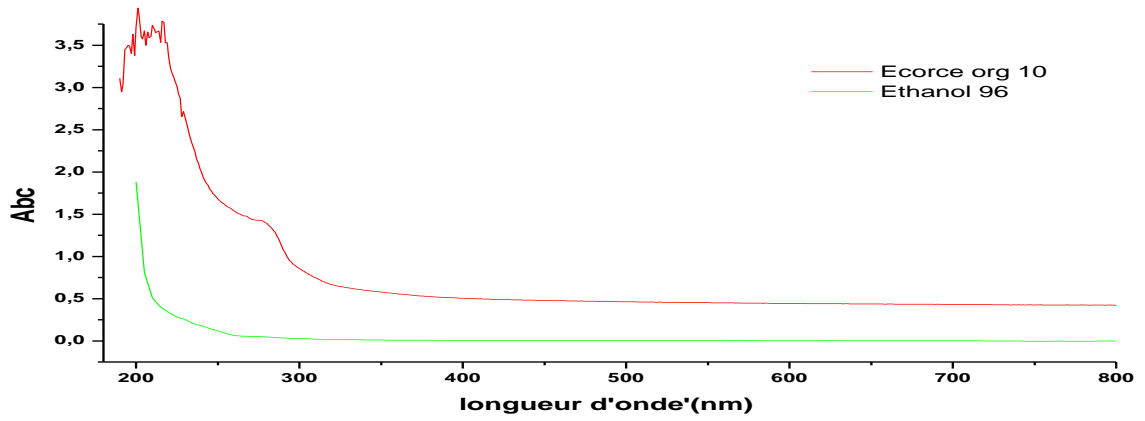
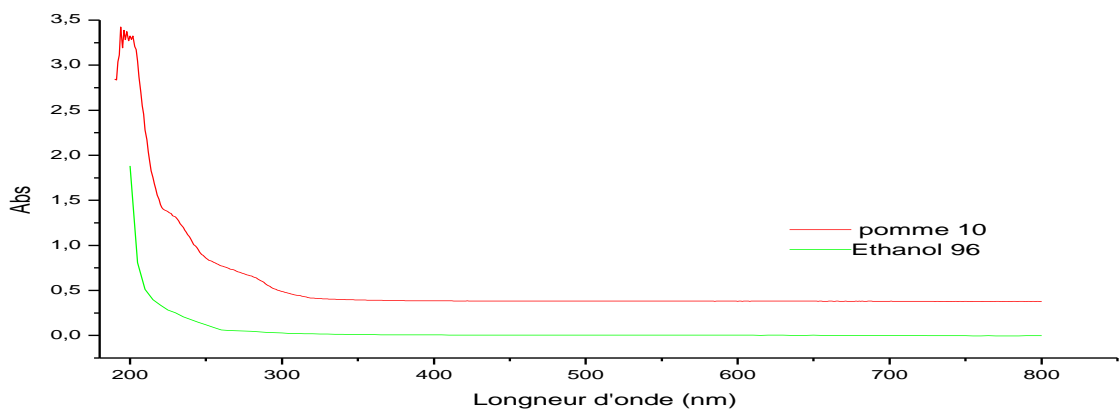
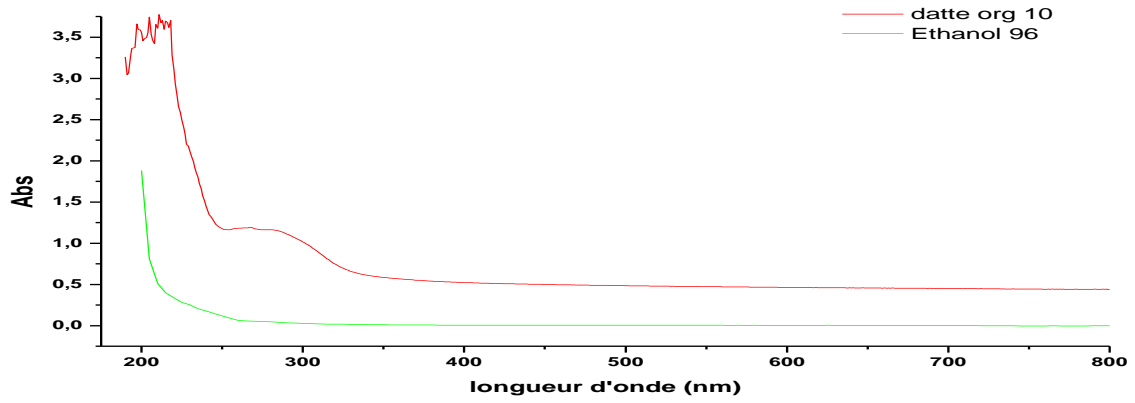


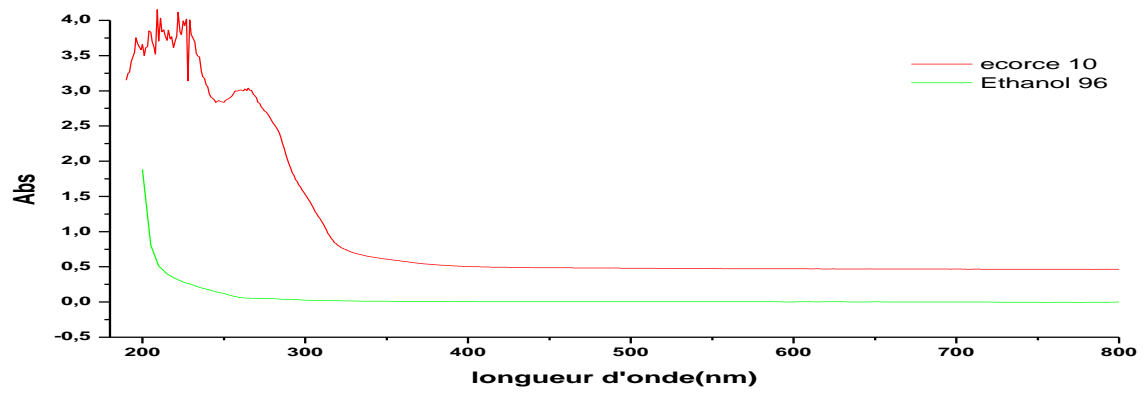
## Annexes 1. Spectres ultra-violet visible

Les spectres ultra-violet –visible de bioéthanol produit à partir de différents échantillons sont montrés dans les figures ci dessous.



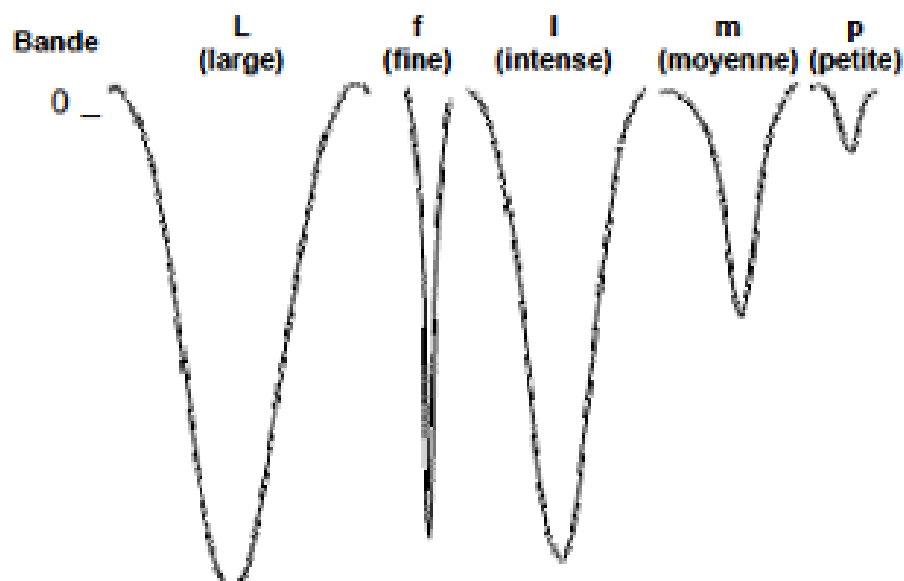
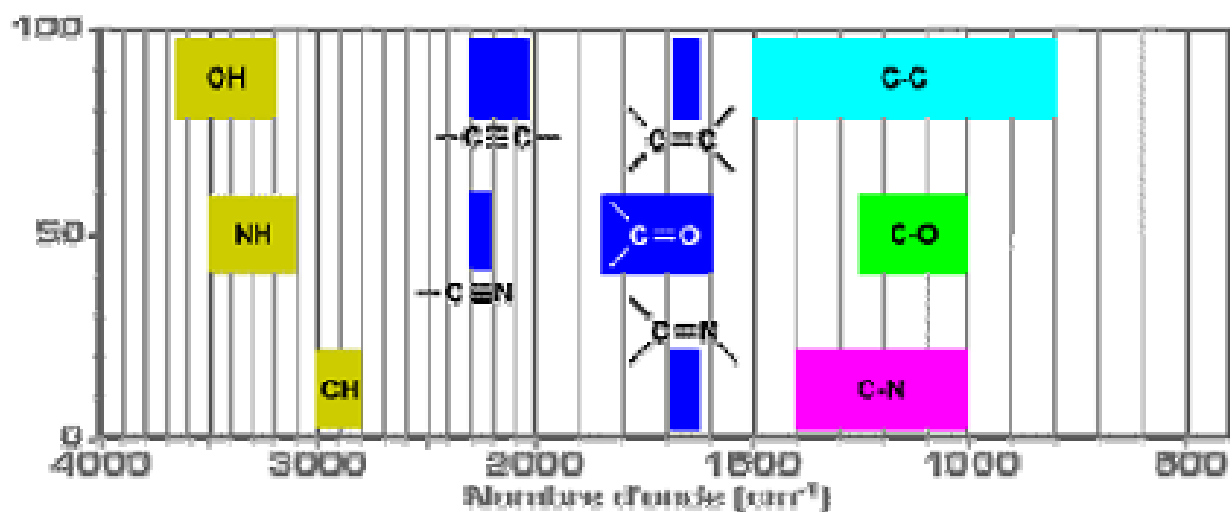






## Annexe 2. Table de données FTIR

Liaison	Nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensité et commentaire
Liaison OH libre	Entre 3500 et 3700 $\text{cm}^{-1}$	Bande fine et moyenne.
Liaison OH liée (liaison hydrogène)	Entre 3100 et 3500 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte et large.
Liaison N-H	Entre 3050 et 3500 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte.
Liaison C=O	Entre 1700 et 1800 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte.
Liaison C-H	Entre 2900 et 3100 $\text{cm}^{-1}$	Bande moyenne à forte
Liaison C=O des esters	Entre 1700 et 1750 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte.
	Entre 1680 et 1740 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte.
Liaison C=O des amides	Entre 1630 et 1710 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte.
Liaison C-H de CHO	Entre 2850 et 2800 $\text{cm}^{-1}$	Bande moyenne.
Liaison OH des acides carboxyliques	Entre 2500 et 3300 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte et large.
Liaison C-O des acides carboxyliques	Entre 1200 et 1320 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte.
Liaison C-O des esters	Entre 1210 et 1260 $\text{cm}^{-1}$	Bande forte.
Liaison NH des amides	Entre 3050 et 3500 $\text{cm}^{-1}$	Deux bandes moyennes larges.
Liaison NH des amides substituées	Entre 3050 et 3400 $\text{cm}^{-1}$	Bande moyenne large.





# Résumé

## Résumé

### الملخص

الهدف من هذا العمل هو تميم النفايات الزراعية من خلال عملية التخمير الكحولي باستخدام خميرة *Saccharomyces cerevisiae* لإنتاج البيو إيثانول. تمت دراسة تأثير درجة الحموضة، كمية الخميرة المضافة وتأثير مكونات الوسط على التخمير. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مزيج التمر مع البرتقال يعطي أعلى إنتاجية مقارنة بجميع العينات الأخرى. فالحموضة يمكن أن تسهم في توفير بيئة ملائمة لتكاثر الخميرة، مما يعزز كفاءة التخمير. بالإضافة إلى ذلك، أثبتت التحاليل الميكروبيولوجية فعالية المنتج ضد السلالات السريرية. وأظهر تحليل الأشعة تحت الحمراء وجود مجموعات مميزة للإيثانول مثل CH، OH و CO. كما كشفت النتائج المتحصلة عليها عن إمكانية استخدام عصير البرتقال، والتفاح، والبنجر، والبرتقال مع قشره، وقشر البرتقال كمواد أولية لإنتاج الكحول من خلال التحويل الحيوي في غياب الأكسجين بوجود خميرة *Saccharomyces cerevisiae*. حيث أن عملية التخمير تعتمد على جودة المادة الأولية ودرجة الحموضة وكمية الخميرة المضافة. في ضوء هذا العمل، لاحظنا أن استخدام هذه التقنية الحيوية يمكن أن تساهم من جهة إلى الحصول على منتج محلي ومن جهة أخرى تحفز استغلال النفايات الزراعية.

**الكلمات المفتاحية:** بيو إيثانول، التخمير الكحولي، النفايات الزراعية، *Saccharomyces cerevisiae*، البيئة

### Résumé

L'objectif de cette étude est la valorisation des déchets agricoles par le processus de fermentation alcoolique en utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae* afin de produire du bioéthanol. La quantité de levure ajoutée, le pH et les effets des composés du milieu sur la fermentation ont été étudiés. Les résultats obtenus indiquent que le mélange de dattes avec orange présente un rendement supérieur à tous les autres échantillons. En effet, l'acidité peut favoriser un environnement propice à la prolifération des levures, ce qui améliore l'efficacité de la fermentation. De plus, les analyses microbiologiques ont démontré l'efficacité du produit contre les souches cliniques. L'analyse infrarouge a révélé la présence de groupements caractéristiques de l'éthanol, tels que le CH, OH et le CO. Les résultats nous ont également montré la possibilité d'utiliser le moût d'orange, de pomme, de betterave, d'orange avec son écorce et d'écorce d'orange comme substrats pour la fabrication d'alcool par la bioconversion anaérobie en présence de la levure *Saccharomyces cerevisiae*, et que le rendement de la fermentation dépend de la qualité de la matière première utilisée, du pH et de la quantité de levure ajoutée. À la lumière de ces travaux, nous avons constaté que l'utilisation de cette biotechnologie permet d'une part d'obtenir un produit local et d'autre part de stimuler la valorisation des déchets agricoles.

**Mots clés :** Bioéthanol, fermentation alcoolique, déchets agricoles, *Saccharomyces cerevisiae*, environnement.

### Abstract

The objective of this study is the valorization of agricultural waste through the Process of alcoholic fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* yeast to produce bioethanol. The quantity of yeast added, pH, and the effects of medium compounds on fermentation were investigated. The results obtained indicate that the mixture of dates with oranges exhibits higher yield compared to all other samples. In fact, acidity can create a favorable environment for yeast proliferation, thereby improving fermentation efficiency. Furthermore, microbiological analyses demonstrated the product's effectiveness against clinical strains. Infrared analysis revealed the presence of characteristic ethanol groups, such as CH, OH, and CO. The results also showed the possibility of using orange juice, apple juice, beet juice, orange juice with peel, and orange peel as substrates for alcohol production through anaerobic bioconversion in the presence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast, with fermentation yield depending on the quality of the raw material used, pH, and the quantity of yeast added. In light of these findings, we observed that the utilization of this biotechnology allows for obtaining a local product and promotes the valorization of agricultural waste.

**Keywords:** Bioethanol, alcoholic fermentation, agricultural waste, *Saccharomyces cerevisiae*, environment.