

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITÉ de BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



**Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité : Eau Et Environnement Et Développement Durable**

Intitulé du mémoire

PRODUCTION DE BIOETHANOL A PARTIR DE DEUX  
VARIETES DE DATTES DE FAIBLE VALEUR MARCHANDE  
« KENTICHI ET HAMRAYA »

Présenté par :

Sadok Abdelkarim

Encadré par :

Elhadi Djamel

Année universitaire 2015/2016

## *Remerciements*

*Mes remerciements les plus profonds et inexprimables,  
s'adressent avant tout au « Tout Puissant » ALLAH pour m'avoir  
guidée tout au long de ce travail.*

*Je tiens à exprimer ma très grande gratitude à mon promoteur,  
professeur **ELHADI DJAMEL**, non seulement d'avoir accepté  
l'encadrement de ce travail, mais surtout pour son aide, ses  
orientations judicieuses, sa disponibilité et ses encouragements  
tout au long de la réalisation du présent travail.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
H%	Humidité
pH	potentiel hydrique
C%	Cendre
A%	L'acidité titrable
SRT	Sucres réducteurs totaux
SRI	Sucres réducteurs initiaux
CPG	Chromatographie en phase gazeux
FID	<i>Détecteur à ionisation de flamme</i>
DO	Densité optique.

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableaux I-1</b> : Propriétés physiques de l'éthanol .....	1
<b>Tableaux I-2</b> : Composition moyenne de la betterave sucrière.....	2
<b>Tableaux I-3</b> : Composition de biomasse lignocellulosique.....	3
<b>Tableaux II-1</b> : Composition en sucres de quelques dattes Algériennes.....	4
<b>Tableaux II-2</b> : Composition vitaminique moyenne de la datte.....	5
<b>Tableaux II-3</b> : Composition de 100 g de dattes en éléments minéraux.....	6
<b>Tableaux IV-1</b> : caractéristiques morphologiques et physiques de dattes .....	7
<b>Tableaux IV-2</b> : Composition biochimique de mout des dattes (Hamraya et Kentichi).....	8
<b>Tableaux IV-3</b> : Résultats du rendement d'alcool.....	9
<b>Tableaux IV-4</b> : Résultats de l'analyse de l'indice de réfraction.....	10

## LISTE DES FIGURES

**Figure I- 1:** Schéma simplifié de la fabrication de l'éthanol à partir de la betterave sucrière

**Figure I-2:** Etape de préparation du bioéthanol a partir des ressources amylacées.

**Figure I-2 :** Schéma simplifié de la production de l'éthanol à partir de la biomasse Lignocellulosique

**Figure I-3 :** Deux microalgues ( Spirulina et Dunaliella)

**Figure III-1:** La variété Kentich

**Figure III-2 :** La variété Hamraya

**Figure III-3 :** Aspect culturale de *Saccharomyces cerevisiae* sur milieu Sabouraud

**Figure III-4 :** Dispositif de la fermentation alcoolique pour les deux variétés Hamraya et Kentichi

**Figure III-5:** Montage de distillation

**Figure IV-1 :** Evolution de la teneur en sucres réducteurs durant la fermentation alcoolique

**Figure IV-2 :** Evolution du pH durant la fermentation alcoolique

**Figure IV-3:** la variation de la température durant la fermentation alcoolique

**Figure IV-4 :** la croissance microbienne de la souche

**Figure IV-5 :** Suivi de la quantité de biomasse durant la fermentation alcoolique

**Figure IV-6 :** Evolution du degré alcoolique durant la fermentation alcoolique

**Figure IV-7:** Chromatogramme de l'éthanol absolu (étalon)

**Figure IV-8 :** Evolution du degré alcoolique durant la fermentation alcoolique

## المخلص

الهدف من هذا العمل هو انتاج الاثانول الحيوي من نوعين من التمور ذات القيمة المنخفضة في السوق ، النوع الاول يسمى كنتيشي الذي ينتمي الى التمور الجافة التي تنمو في مدينة بسكرة اما النوع الثاني يسمى حمرايا تنتمي الى التمور اللينة و التي تنمو في مدينة واد سوف . هذه التمور غنية بالسكريات (الجلوكوز) يمكن تحويلها بوسائل التكنولوجيا الحيوية الى اثنانول خام.

اثناء التخمر تستخدم التمور كركيزة اما خميرة الخباز كوكيل التجويل البيولوجي من السكر الى الاثنانول .

في هذا المعنى، إن النتائج التي تم الحصول عليها بعد التخمر وايضا بعد التقطير لي ثالث مرة ان النوع حمرايا اعطى كمية من الكحول تقدر 742 مل اما النوع كنتيشي الكمية هي 658 مل و تركيز الكحول المتحصل عليه اثناء التخمر هو على التوالي 16.23° ، 15.18° لحمرايا وكنتيشي

اليوم من خلال عمليات التكنولوجيا الحيوية، يمكن مواعيد القيمة السوقية منخفضة وطرحها في السوق المحلي والدولي، جيل جديد من المنتجات ذات القيمة المضافة العالية مثلا الإيثانول..

### Résumé :

L'objectif de ce travail c'est la production de bioéthanol à partir de deux variétés de dattes de faible valeur marchande ,la premier variétés Kentichi qui appartient a la catégorie des dattes sèches, elle est originaire de Biskra. La seconde variété Hamaraya appartient la catégorie de dattes molles et provient de la vile de Oued Souf. Ces dattes sont riches en sucres (glucose) peuvent être transformés par des procédés biotechnologiques pour obtenir l'éthanol brut.

Dans un fermenteur en utilise les dattes comme substrat et la levure *Saccharomyces cerevisiae* comme agent de bioconversion du sucre en éthanol.

En ce sens, les résultats obtenus sur la fermentation montrent après la troisième distillation que la variété Hamraya donne une quantité d'alcool est 742ml meilleurs que la deuxième variété Kentichi qui est 658 ml et la teneur en alcool obtenue au cours de la fermentation est respectivement 16.23° ,15.18° pour Hamraya et Kentichi.

Aujourd'hui grâce aux procédés biotechnologiques, il est possible de valoriser les dattes de faible valeur marchande et de mettre sur le marché local et international, une nouvelle génération de produits à hautes valeurs ajoutées tel que le bioéthanol.

**Mots clés :** biocarburant – biomasse - les dattes – fermentation

**Abstract:**

The objective of this work is the production of bioethanol from two varieties of low-value dates, the first varieties Kentichi which belongs to the category of dry dates, it originated in Biskra. The second variety Hamaraya belongs the category of soft dates and comes from the vile of Oued Souf. These dates are rich in sugars (glucose) can be converted by biotechnological methods to obtain the crude ethanol.

In this sense, the results obtained after fermentation shows that the third distillation variety Hamraya gives a quantity of alcohol is better than the second 742ml variety Kentichi which is 658 ml and the alcohol obtained in the fermentation respectively is 16.23 °, 15.18° and Hamraya Kentichi.

Today through biotechnological processes, it is possible to enhance the dates of low market value and put on the local and international market, a new generation of products with high added value such as bioethanol.

## TABLE DES MATIERES

Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Table des matières	
Introduction .....	1
<b>CHAPITRE I : GENERALITE SUR LE BIOETHANOL</b>	
I. Généralité sur le bioéthanol .....	19
I.1 Introduction .....	19
I.2 Bioéthanol de premier génération .....	20
I.2.1 Le bioéthanol issue de la biomasse agricole .....	20
I.2.2 La production d'éthanol d'origine agricole .....	21
I.2.3 L'extraction du sucre .....	21
I.2.4 L'hydrolyse enzymatique de l'amidon .....	23
I.2.5 La fermentation alcoolique .....	24
I.2.6 La distillation .....	25
I.2.7 La déshydratation.....	25
I.3 Bioéthanol de deuxième génération .....	25
I.3.1 Le bioéthanol issue de la biomasse lignocellulosique .....	25
I.3.2 Structure et composition générique de la lignocellulose .....	26
I.4 Bioéthanol de troisième génération.....	28
I.4.1 Le bioéthanol issu des microalgues .....	28
I.5 L'utilisation d'éthanol .....	28
I.6 Les Avantages et les Inconvénients de la production du bioéthanol.....	29
I.6.1 Les Avantages.....	29



I.6.2	Les inconvénients.....	30
-------	------------------------	----

## CHAPITRE II: PRESENTATION DE LA MATIERE PREMIERE «LES DATTES»

II.	Présentation de la matière première « les dattes » .....	16
II.1	Introduction .....	16
II.2	Définition .....	16
II.3	Les catégories de dattes.....	17
II.4	Caractéristiques morphologiques des dattes .....	17
II.5	Caractéristiques physicochimique des dattes.....	18
II.5.1	Teneur en eau.....	18
II.5.2	pH.....	18
II.5.3	Acidité.....	18
II.6	Composition biochimique .....	18
II.6.1	Sucres totaux et sucres réducteurs .....	18
II.6.2	Les vitamines .....	19
II.6.3	Les éléments minéraux .....	20
II.6.4	Les protéines .....	21
II.6.5	Les Lipides .....	21
II.6.6	Les fibres.....	21
II.7	Mise en valeur des déchets.....	21
II.7.1	La biomasse et protéines unicellulaires .....	21
II.7.2	Les alcools .....	21
II.7.3	Le vinaigre .....	22
II.7.4	Les aliments de bétail.....	22
II.8	Choix de la matière première .....	22

## CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES

III. Matériel et Méthodes .....	24
III.1 Matériel végétal .....	24
III.2 Matériel microbiologique .....	25
III.2.1 Caractéristiques culturales de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	25
III.3 Méthodes .....	26
III.3.1 Préparation du moût de dattes.....	26
III.3.2 Lavage des dattes .....	26
III.3.3 Dénoyautage .....	26
III.3.4 Egouttage et séchage.....	26
III.3.5 Broyage et hydratation.....	26
III.3.6 Filtration et stérilisation .....	27
III.3.7 Préparation de l'inoculum.....	27
III.4 Dispositif utilisé pour la fermentation alcoolique .....	27
III.5 Mise en œuvre de la fermentation .....	28
III.6 Les différentes analyses effectuées.....	28
III.6.1 Analyse physique et morphologique des dattes .....	28
III.6.2 Analyse biochimique .....	29
III.6.3 Dosage des sucres .....	32
III.6.4 Le degré alcoolique.....	34
III.6.5 Teneur en biomasse active en terme de matière en suspension .....	34
III.7 La Distillation alcoolique .....	35
III.8 La déshydratation .....	35
III.9 Vérification de la pureté .....	36
III.10 Méthodes d'identification.....	36
III.10.1 Par chromatographie en phase gazeuse .....	36

## CHAPITRE IV:RESULTAS ET DISCUSSION

IV. Caractéristiques morphologiques, physique et biochimique des dattes.....	38
IV.1    Caractères physiques et morphologiques des dattes.....	38
IV.2 Caractéristiques physicochimiques et composition de moût de dattes .....	41
IV.3    Résultats de la cinétique de la fermentation alcoolique .....	40
IV.3.1  Suivi de l'évolution de la teneur en sucres réducteurs durant la fermentation alcoolique .....	41
IV.3.2  Suivi de l'évolution du pH durant la fermentation alcoolique.....	42
IV.3.3  Suivi la variation de la température  durant la fermentation alcoolique	43
IV.3.4  Suivi de la croissance de la souche .....	43
IV.3.5  Suivi de la quantité de biomasse .....	45
IV.3.6  Suivi de l'évolution du degré alcoolique durant la fermentation alcoolique.....	45
IV.4    Rendement de l'éthanol et vérification de sa pureté.....	46
IV.5    L'indice de réfraction .....	47
IV.6    Résultats de l'identification du bioéthanol par chromatographie en phase gazeuse	
Conclusion générale .....	50
Référence bibliographiques	
Annexes	

## INTRODUCTION

Les changements climatiques, de même que la demande croissante d'énergie, l'instabilité des prix du pétrole et les pénuries d'énergie, ont conduit à rechercher des sources d'énergie de remplacement efficaces économiquement, équitables socialement et rationnelles du point de vue de l'environnement.

La bioénergie est considérée comme une voie prometteuse pour les énergies renouvelables surtout que les énergies fossiles commencent à se raréfier.

De nos jours, les réserves en pétrole brut et les capacités de raffinage limitées, et l'inquiétude grandissante, en ce qui concerne la dégradation de l'environnement, offrent d'excellentes perspectives au bioéthanol. Il est probablement la source d'énergie alternative pour les véhicules et la plus utilisée au monde. Selon la directive 2003/30/CE, l'utilisation du bio alcool vise à promouvoir l'utilisation de biocarburants, présentant un double intérêt: économique et écologique [1].

La biomasse représente une des ressources renouvelables la plus abondante sur terre, et certainement une des moins coûteuses. Ce dernier est défini comme étant l'ensemble de « la fraction biodégradable des produits, déchets et résidus provenant de l'agriculture (y compris les substances végétales et animales), de la sylviculture et de leurs industries connexes, ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et municipaux ». Elle recouvre :

- La biomasse agricole
- La biomasse lignocellulosique
- Les déchets organiques
- La biomasse issue des algues marines ou aquatiques et des micro-organismes

En effet, des coproduits de l'agriculture ont été utilisés comme une source renouvelable d'énergie et pour la production de nombreux composés chimiques, incluant le bioéthanol.

La conversion de la biomasse en éthanol à usage carburant devrait permettre de subvenir à une partie des besoins énergétiques, couverts jusqu'à présent essentiellement par les

Produits dérivés du pétrole, tout en générant de nouvelles opportunités pour le monde agricole [2].

Le bioéthanol est le produit de la fermentation des sucres à partir de la biomasse. Il est obtenu par la fermentation des sucres fermentescibles contenus dans la biomasse en présence d'une levure, *Saccharomyces cerevisiae* qui est l'une des levures utilisées lors de la fermentation des sucres. Le bioéthanol peut être produit à partir:

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

L'utilisation de bioéthanol réduit de 7% la quantité de CO<sub>2</sub> émise par rapport à l'essence et aussi contient 35% d'oxygène, ce qui permet une réduction d'émission de matière particulaire [3].

Actuellement les possibilités de valorisation énergétique de la biomasse par les procédés biotechnologiques représentent une solution de choix pour l'utilisation des produits agricoles de faible valeur commerciale, les déchets de dattes. Ces derniers peuvent constituer une matière première valorisable susceptible de constituer une source de molécules d'intérêt industriel et énergétique.

L'Algérie produit annuellement quelques 550 000 tonnes de dattes dont la moitié seulement est commercialisée, le reste servant d'aliment pour le bétail en raison de leur mauvaise qualité. Il est enregistré un excès de production annuelle de 100 000 à 150 000 tonnes [4].

En outre, il est utile de signaler que malgré l'importance de son potentiel, l'Algérie ne dispose d'aucune industrie de transformation de la datte. Il ne faut pas oublier que pour que cette industrie soit rentable, il est nécessaire de disposer d'un produit

pouvant être obtenu en grande quantité et à un prix relativement bas et les dattes communes ainsi que les déchets répondent parfaitement à cette exigence.

En effet, les déchets de datte peuvent constituer une matière première valorisable susceptible de constituer une source de molécules d'intérêt industriel et énergétique [5].

Notre étude s'insère dans cette préoccupation et consiste à développer un procédé biotechnologique de production de bioéthanol issu de la fermentation alcoolique des sucres de rebuts de dattes.

La première partie étudie les conditions d'extraction du jus des dattes, nous avons étudié l'influence de la température d'extraction, le ratio pulpe/eau et le temps d'extraction. Un modèle phénoménologique a été établi, pour la concentration finale en sucres.

La deuxième partie, développe la fermentation alcoolique de sirop des dattes par les levures. Toutefois, les fortes teneurs en sucres dans les milieux de cultures, induisent une forte pression osmotique qui limite la capacité fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae*.

# CHAPITRE I : GENERALITE SUR LE BIOETHANOL

## **I. Généralité sur le bioéthanol**

### **I.1 Introduction**

Le Bioéthanol s'est imposé depuis longtemps comme le biocarburant numéro un dans le monde et le marché de bioéthanol a poursuivi son expansion rapide au cours de ces dernières années. L'utilisation croissante du bioéthanol comme alternative aux carburants fossiles est un fait acquis depuis plusieurs années au Brésil et aux États-Unis. La valorisation énergétique des sous-produits de l'industrie des dattes en bioéthanol s'inscrit dans une démarche économique et environnementale [6].

Le bioéthanol est un carburant présenté comme étant une alternative écologique aux carburants actuels. Le bioéthanol n'est ni plus ni moins que la concentration et la déshydratation d'un alcool obtenu principalement à partir de céréales, de betteraves ou de canne à sucre, déchets agricole Il peut être actuellement utilisé de 3 manières :

- tel quel en étant mélangé à l'essence classique dans une proportion de 10% sans modification du véhicule.
- Transformé en ETBE (Ethyl Tertio Butyl Ether) qui est un dérivé pouvant être mélangé à l'essence classique dans une proportion de 15%, ce dérivé utilise actuellement la plus grande partie de production de bioéthanol mais est aussi le plus polluant à produire.
- comme carburant à part entière grâce à l'E85 constitué de 85% de bioéthanol et de 15% de Sans plomb 95. C'est actuellement une solution écologique dans sa consommation puisqu'il produit beaucoup moins d'effet de serre que les carburants classiques. Ce carburant nécessite des véhicules spéciaux, les véhicules flex fuel.
- comme E100 (100% Éthanol), qui est la solution la plus écologique, car le CO<sub>2</sub> rejeté par la combustion de l'éthanol, contribue très peu à l'effet de serre : en effet, lors de sa croissance, la plante a absorbé une certaine quantité de dioxyde de carbone.

Le tableau ci-dessous donne les différentes propriétés physiques de l'éthanol (masse molaire, point de fusion, point d'ébullition, densité,...) [7].



**Tableau I-1 ; Propriétés physiques de l'éthanol**

Masse molaire	Point de fusion	Point d'ébullition	Densité	
46.07 g/mol	-114 °C	78.5 °C	0.789	
Tension de vapeur			Points d'éclair	
20 °C	34.9 °C	63.5 °C	Coupelle fermée	Coupelle Ouverte
5.85 kPa	13.3 kPa	53.3 kPa	12.8 °C	16 °C

La production d'éthanol passe par une fermentation anaérobique des sucres suivie d'une distillation. Bien que ces deux étapes soient communes aux différentes filières, les procédés de fabrication diffèrent selon le type de biomasse.

Par opposition aux molécules les plus fermentescibles, les sucres aux structures complexes requièrent des traitements préalables avant de pouvoir se rendre disponibles pour subir une fermentation.

L'objectif de cette section est de faire la lumière sur les grandes étapes de fabrication de l'éthanol à partir des plantes sucrières (canne à sucre et betterave) et amylacées (blé et maïs) et à partir de la biomasse lignocellulosique pour finalement dresser un bref aperçu des nouvelles filières émergentes de biocarburants.

## **I.2 Bioéthanol de premier génération**

### **I.2.1 Le bioéthanol issue de la biomasse agricole**

L'éthanol n'est rien de plus que l'alcool contenu dans les boissons alcoolisées consommées par les humains depuis la nuit des temps. Il est le produit de la fermentation des sucres. Le bioéthanol est de l'éthanol élaboré à partir de biomasse. Il est obtenu par la fermentation des sucres fermentescibles (hexoses – sucres à six carbones) contenus dans la biomasse. Il peut être élaboré à partir de biomasses riches en sucrose (canne à sucre, betterave sucrière, etc.), en amidon (maïs, orge, blé, pomme de terre, etc.) ou en cellulose (résidus agricoles tels que la paille ou les cannes de maïs, résidus forestiers, cultures énergétiques telles que le panic érigé ou des arbres à courte rotation). Alors que le glucose contenu dans la biomasse riche en sucrose

peut être directement fermenté par les microorganismes, celui contenu dans l'amidon et la cellulose n'est pas directement disponible. Les chaînes de glucose contenues dans ces polysaccharides doivent être au préalable fragmentées par un procédé appelé hydrolyse enzymatique [8].

### **I.2.2 La production d'éthanol d'origine agricole**

Les sucres (glucose ou saccharose) contenus dans les plantes sucrières (betterave à sucre, canne à sucre) et les plantes amylacées (céréales comme le blé ou le maïs) sont transformés en alcool par un procédé de fermentation industrielle. L'alcool est ensuite distillé et déshydraté pour obtenir du bioéthanol. Les coproduits obtenus lors du processus de production (drêches et pulpes) sont destinés à l'alimentation animale. Le sucre est une substance de saveur douce extraite de la canne à sucre. Il est majoritairement formé d'un composé nommé saccharose. Il se trouve que la betterave sucrière et d'autres végétaux permettent également de produire des produits composés essentiellement du saccharose.

### **I.2.3 Extraction du sucre**

Le sucre de la betterave s'obtient au terme d'un travail d'extraction. Il s'agit d'isoler le saccharose en éliminant, par étapes, les autres composants de la betterave. Pour retirer le sucre des cellules végétales, il faut le séparer des impuretés et éliminer l'eau dans laquelle le sucre est dissous. Au terme de ces opérations, le sucre est successivement extrait, purifié, concentré et cristallisé sans aucune altération ni transformation chimique. Le procédé d'extraction de sucre comprend principalement les opérations unitaires (extraction, épuration, évaporation, cristallisation).

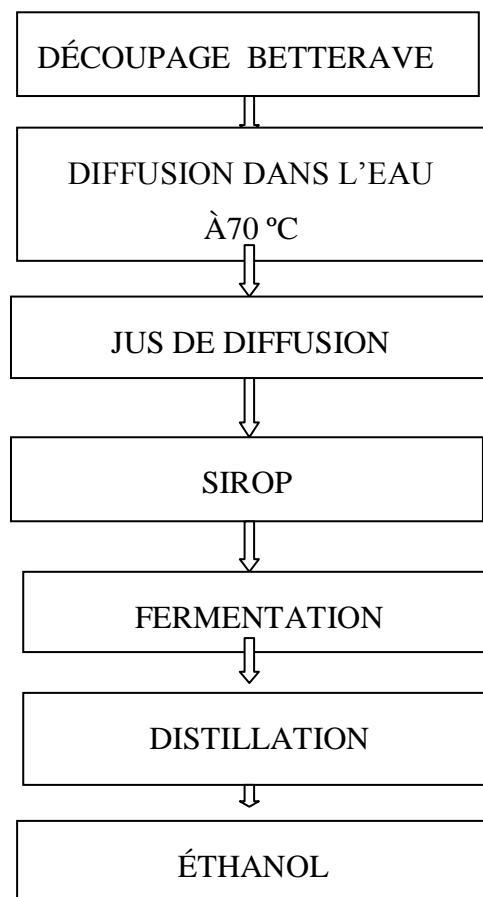
Le pressage et le séchage de la pulpe de betterave, ainsi que la récupération du sucre à partir de la mélasse peuvent être considérés comme des étapes complémentaires du procédé [9]. La composante moyenne de la betterave représentée dans le tableau ci-dessous [10].

**Tableau I-2** : Composition moyenne de la betterave sucrière

Composante	Teneur (%)
Eau	75.9
Non-sucrés	2.6
Sucre	16.0
Pulpe	5.5
Total	100.0

Le procédé de fabrication de l'éthanol diffère selon la source de sucre utilisé. En ce qui concerne les plantes (**Figure I-1.**) notamment la betterave et la canne à sucre, les molécules simples de glucose et saccharose sont extraites pas simple diffusion.

Le jus de betterave et de canne à sucre fermenté passe par simple distillation pour obtenir de l'éthanol [11].



**Figure I-1:** Schéma simplifié de la fabrication de l'éthanol à partir de la betterave sucrière

Les plantes amylacées qui regroupent les céréales telles que les grains de maïs ou encore de blé contiennent des sucres polymérisés sous forme d'amidon. Du fait de sa longue chaîne Carbonée, l'amidon doit être extrait dans un premier temps par broyages grains de céréale.

Le prétraitement mécanique est suivi d'une hydrolyse qui peut se faire par voie sèche ou humide. En ce qui concerne la voie humide, le grain est moulu et ses constituants (gluten et son) sont séparés par lavage.

#### **I.2.4 L'hydrolyse enzymatique de l'amidon**

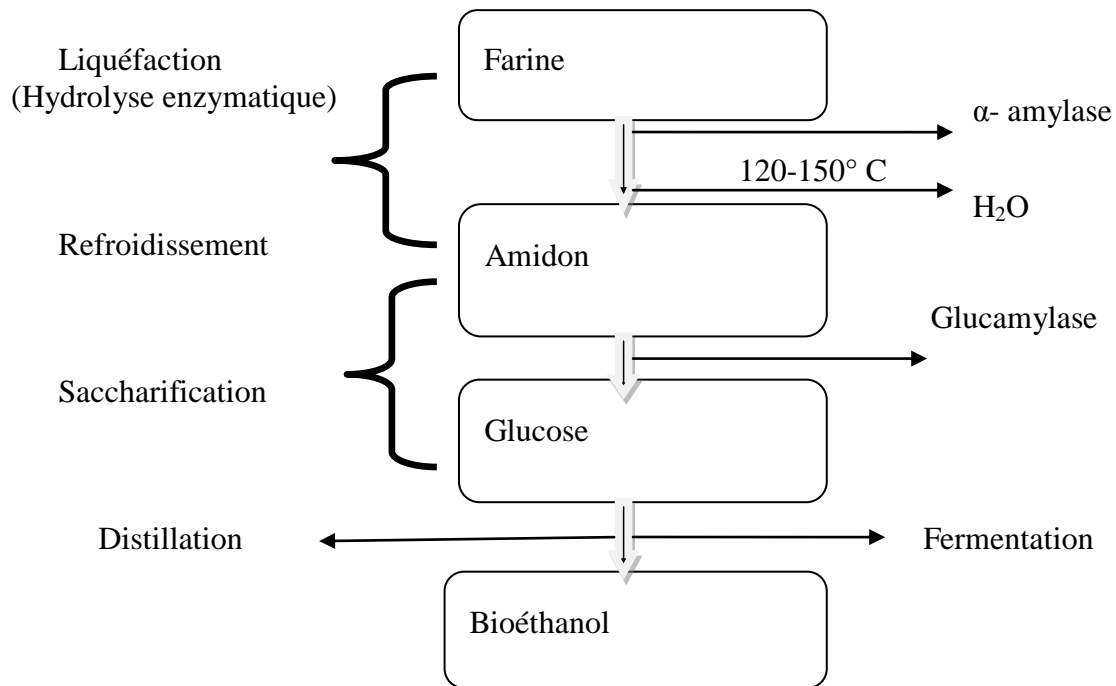
L'hydrolyse de l'amidon consiste en un « découpage » de la molécule, qui peut être effectué à des niveaux différents, éventuellement jusqu'à obtention de la seule molécule unitaire de glucose.

Les plantes « amylacées » tels que le blé, le maïs et la patate douce, contiennent de l'amidon sous forme d'amylose et d'amylopectine. La structure de base de l'amylose est le maltose, alors que la structure de base de l'amylopectine est le D-glucose.

Les dextrines sont des mélanges de gluco-oligosides linéaires dont les unités de glucose sont liées par des liaisons osidiques du type  $\alpha$ -1,4 mais dont le groupement est lié par une liaison osidique  $\alpha$ -1,6.

La solution d'amidon, obtenue à partir des plantes pressées et broyées, est cuite à 100°C, à pH 6 en présence d' $\alpha$ -amylase pendant 5 à 8 minutes. Elle subit ensuite une liquéfaction, en présence d' $\alpha$ -amylases additionnelles pendant 90 minutes, à 80-90°C. Les produits obtenus sont des dextrines, qui sont saccharifiées à 65°C à pH 4-5 par des glucoamylases pendant 8 à 10 heures [12].

Dans ce cas l'éthanol, également appelé de première génération est produit à partir des céréales ou les grains de maïs. L'amidon contenu dans ces produits n'est pas utilisé directement par les levures. Il est transformé en sucre soluble et fermentescible (**Figure I-2**) [13].



**Figure I-2:** Etape de préparation du bioéthanol a partir des ressources amylicées.

### **I.2.5 La fermentation alcoolique**

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



Les souches de *Saccharomyces* tolèrent généralement de fortes concentrations en éthanol mais par contre sont sensibles à l'effet glucose. Il faut noter également que ces souches ont la particularité de sédimenter dans le milieu en fin de fermentation. Ce phénomène de floculation est un élément favorable pour la séparation des levures [14].

Lors de la fermentation alcoolique, on peut observer :

- un dégagement de gaz carbonique
- une augmentation de la température du milieu
- une accentuation de la couleur
- une accentuation de la couleur un changement d'odeur et de saveur, au début le liquide est sucré et à mesure de la fermentation, il devient de plus en plus alcoolisé et acide.

- une diminution de la densité due à la transformation des sucres en alcool
- une augmentation du volume, du à l'augmentation de la température et au gaz carbonique qui s'échappe.

### **I.2.6 La distillation**

La distillation est la technique la plus couramment pour séparer et purifier des liquides .Elle repose sur la vaporisation partielle d'un composé liquide suivie de la condensation des vapeurs obtenues pour retrouver le composé purifié sous la forme liquide, c'est à dire que l'alcool est séparé de l'eau par évaporation. Il est possible d'obtenir à la fin de ce processus un produit affichant une pureté de 95% environ, le reste étant constitué d'eau. Pour obtenir un éthanol d'une plus grande pureté, il est possible de le faire passer par une étape de rectification, c'est à dire que l'alcool est purifié à travers des phases successives d'évaporation et de condensation.

### **I.2.7 La déshydratation**

Pour les besoins de la commercialisation, l'éthanol est déshydraté par un tamis moléculaire.

L'éthanol est alors dit « anhydre ». Un dénaturant y est ajouté en petite quantité (2 à 5 %) afin d'éviter qu'il ne soit commercialisé sur le marché de l'alimentation humaine. cette étape consiste à adsorber et résorber l'eau sur un support tel des zéolites synthétiques sphériques, ou des silicoaluminates ( $\text{AlO}_4$  et  $\text{SiO}_4$ ), à structure cristalline poreuse.

## **I.3 Bioéthanol de deuxième génération**

### **I.3.1 Le bioéthanol issue de la biomasse lignocellulosique**

La ressource de biomasse lignocellulosique provient aussi bien des résidus agricoles et forestiers ou des sous-produits de transformation du bois que de cultures dédiées, qu'il s'agisse de plantes ligneuses ou de plantes herbacées [15].

Le bioéthanol issu des ressources lignocellulosiques est dit de deuxième génération. La cellulose est incluse dans une matrice complexe d'hémicellulose et de lignine auxquelles elle est liée par différents types de liaisons chimiques (hydrogène, Van der Waals ou covalentes).

La préparation du moût se fait en deux étapes :

- Le prétraitement vise à la solubilisation totale ou partielle de l'un ou des deux agents incrustants de la cellulose : les hémicelluloses (solubles à chaud entre 100 et 150°C en conditions acide dilué) et la lignine (fusible à partir de 140°C).
- L'hydrolyse enzymatique consiste en la conversion de la cellulose en glucose et cellobiose par l'intermédiaire d'enzymes. Les enzymes les plus utilisées sont les exo-glucanases,  $\beta$ -cellobio hydrolases, les endro-glucanase et les  $\beta$ -glucosidases [16].

### **I.3.2 Structure et composition générique de la lignocellulose**

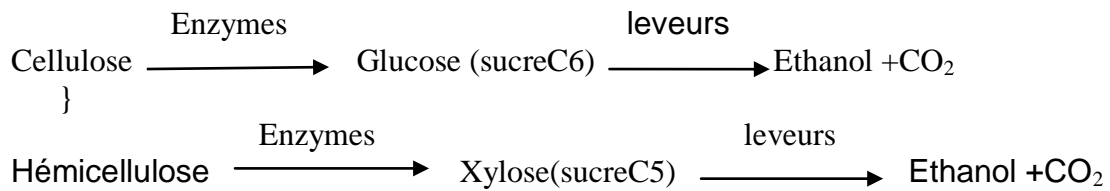
La matière lignocellulosique est le constituant principal de la paroi cellulaire des plantes. Elle est la source de carbone renouvelable la plus abondante de la planète. Elle est constituée de trois éléments majeurs qui sont la cellulose, l'hémicellulose et la lignine [15]. A l'intérieur de la biomasse lignocellulosique, ces trois macromolécules s'entremêlent et forment une structure tridimensionnelle complexe et très résistante, maintenue par des liaisons hydrogène et des liaisons covalentes, qui résiste aux attaques de phytopathogènes et qui confère de la rigidité aux plantes. La proportion et la nature de chacune des macromolécules sont fonction de l'origine botanique de la matière (}}] ce tableau donne une idée sur la composition de biomasse lignocellulosique [17].

**Tableau I-3** : Composition de biomasse lignocellulosique

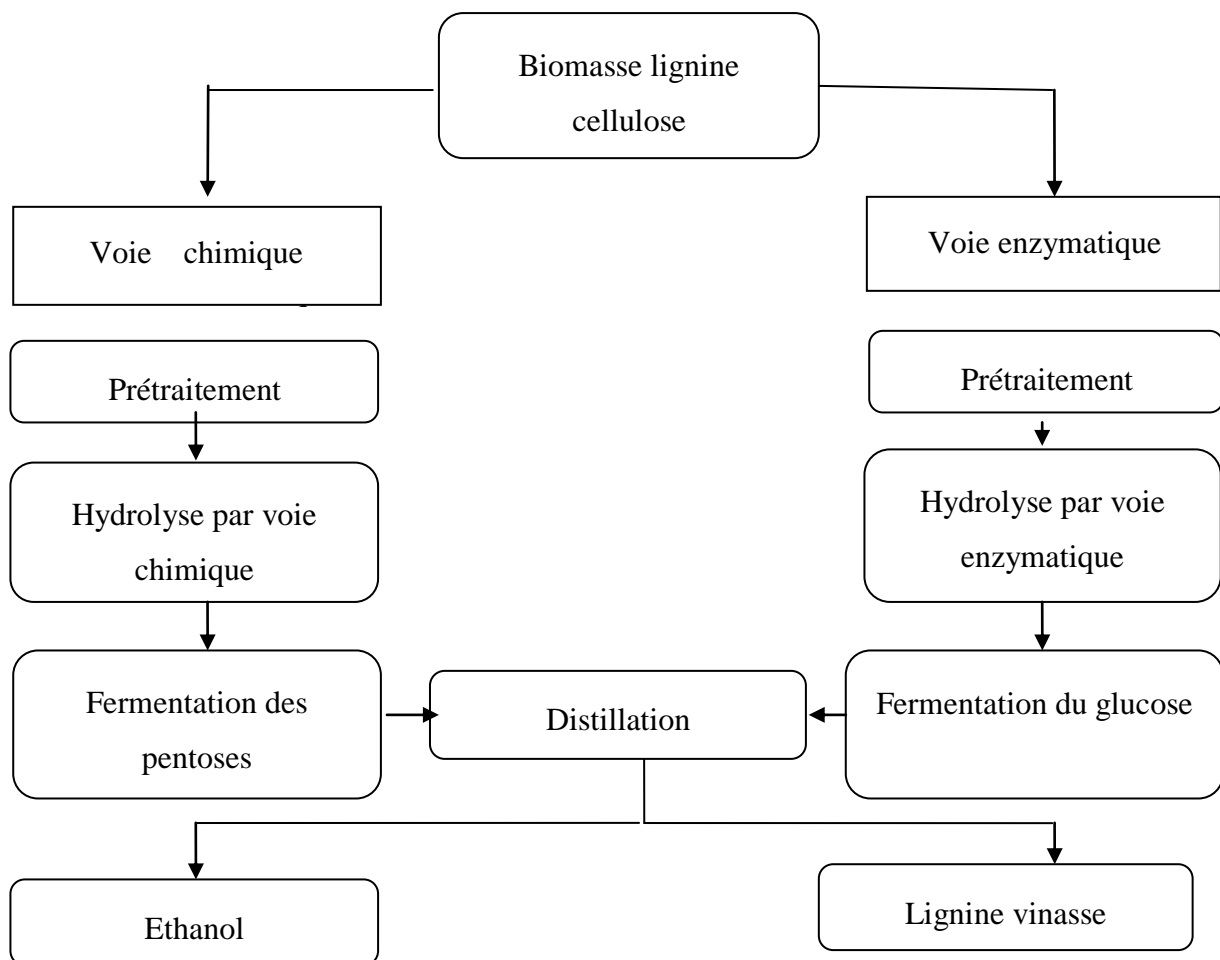
	Cellulose	Hemi - Cellulose	Lignine
Bois dur	40 - 55 %	24 - 40 %	18 - 25 %
Bois tendre	45 - 50 %	25 - 35 %	25 - 35 %
Pailles	30 - 43 %	22 - 35 %	15 - 23 %
Herbes	25 - 40 %	35 - 50 %	10 - 30 %

Les procédés de production d'éthanol à partir de la biomasse lignocellulosique intègrent plusieurs considérations de base à savoir que :

- La lignine ne peut être fermentée en éthanol
- La matrice lignocellulosique doit être prétraitée pour rendre cellulose et hémicelluloses hydrolysables
- Les fractions cellulosiques et hémicellulosiques sont des sources potentielles de sucres fermentescibles.



Les étapes de la transformation de la lignocellulose en éthanol sont résumées dans la **(Figure I-3)**



**Figure I-3** ; Schéma simplifié de la production de l'éthanol à partir de la biomasse

Lignocellulosique

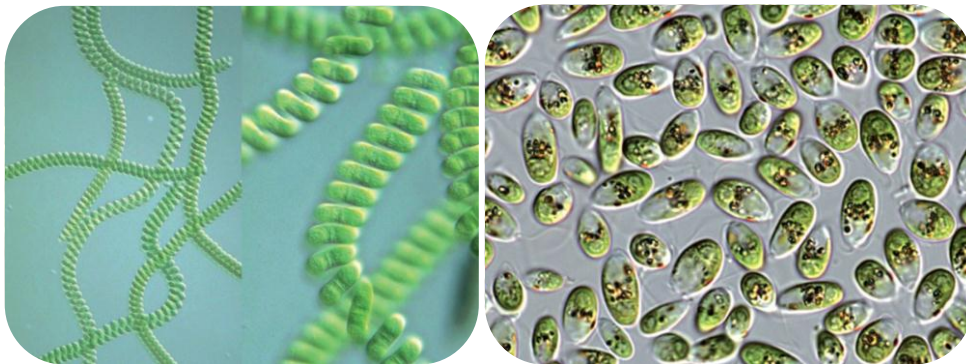


## I.4 Bioéthanol de troisième génération

### I.4.1 Le bioéthanol issu des microalgues

Les algues microscopiques ou microalgues à haute teneur en lipides sont la matière première destinée à produire cette nouvelle génération de carburants. En plus de leurs propriétés de croissance exceptionnelle, les microalgues peuvent produire les molécules souhaitées, telles que des lipides ou des biopolymères, avec de forts rendements. Cette capacité est due à la composition mixte, mi-animale mi-végétale, de leur cellule unique contenant deux "centrales énergétiques" essentielles à leur croissance : la mitochondrie et le chloroplaste.

Les microalgues comme *Chlorella*, *Dunaliella*, (**Figure I-4**) *Chlamidomonas*, *Scenedesmus* et *Spirulina* sont connues par leur importante quantité d'amidon et de glycogène contenus dans leurs cellules ; ils représentent plus de 50% de leur poids total sec.



**Figure I-4:** deux microalgues ( Spirulina et Dunaliella)

L'amidon peut être extrait par voie mécanique telle que les ultrasons et le cisaillement ou par voie chimique, par dissolution des cellules en utilisant des enzymes. Une fois l'amidon extrait, il subit une hydrolyse (saccharification) pour le transformer en un sucre simple fermentescible, qui sera soumis à une fermentation suivie d'une distillation [13].

## I.5 Utilisation de l'éthanol

Le bioéthanol peut être utilisé à l'état pur comme carburant substitut à l'essence dérivée du pétrole ou bien en mélange à des niveaux de concentration variables. Les mélanges d'éthanol et d'essence sont identifiés par l'abréviation « Exx », où « xx »

indique le pourcentage d'éthanol inclus dans le mélange. Un carburant E20 contient donc 20 % d'éthanol et 80 % d'essence, alors qu'un carburant E100 correspond à de l'éthanol pur. Plusieurs types de mélange sont commercialisés dont les plus fréquents sont le E5, le E10, le E85 et le E100 [13].

Le bioéthanol peut être aussi utilisé sous forme d'ETBE (Ethyl Tertio Butyl Ether), qui est formé par l'éthérisation catalytique de l'isobutane avec de l'éthanol. Il contient 45% en masse d'éthanol combiné sous forme chimique. L'ETBE possède les mêmes avantages que l'éthanol en termes d'accroissement d'indice d'octane [16].

Comparé à l'essence, l'éthanol contient près de 40 % moins d'énergie, mais affiche une masse volumique supérieure de 7 %. Utilisé dans un système d'injection volumétrique, l'éthanol générera donc moins de puissance qu'une essence, cette diminution étant proportionnelle au contenu en éthanol du carburant. Toutefois, l'incorporation de 10 % d'éthanol dans l'essence ne réduit que de 3 % la puissance du moteur et favorise une meilleure combustion d'un même ordre de grandeur [13].

## **I.6 Les Avantages et les Inconvénients de la production du bioéthanol**

### **I.6.1 Les Avantages**

- L'éthanol est produit à partir de la biomasse, une source d'énergie qui émet peu de gaz à effet de serre.
- La valorisation optimale de la biomasse, Si l'on tient compte des coproduits obtenus par les filières (paille, drèches, tourteaux, pulpes...) valorisés en alimentation animale, en engrais, en énergie ou dans l'industrie.
- Bilan écologique positif et meilleur que celui des carburants fossiles: réduction de 75% des émissions de CO<sub>2</sub> et balance énergétique très nettement positive.
- L'exploitation de l'éthanol permet de restreindre la dépendance énergétique en pétrole des Etats et de promouvoir les énergies renouvelables.
- Diminution aussi de la dépendance énergétique envers le pétrole
- Contribution à la création d'emplois et à diversifier les activités agricoles.

- Pouvoir lubrifiant bénéfique lorsqu'ils sont mélangés aux nouveaux carburants fossiles à basse teneur en soufre.
- L'automobiliste peut faire le plein, indistinctement en Euro 95 ou E85, ou un mélange des deux dans le même réservoir.
- Avec cette technologie, nous ne parlons pas de concept ou de promesses. Les biocarburants ont cet intérêt d'être une technologie du présent. Il est important d'avoir de suite une solution.
- Les gammes des constructeurs vont être, à ce niveau, de plus en plus larges.
- Comme le GPL ou le GNV, les biocarburants ont l'avantage indéniable d'afficher un coût de la technologie mesuré.

### **I.6.2 Les inconvénients**

- La production d'éthanol contribue à la déforestation et nécessite l'utilisation massive d'eau, de pesticides, d'herbicides et de fertilisants.
- L'éthanol est produit à partir de matières premières, jusque-là destinées à la consommation alimentaire. La production de biocarburants a contribué à la hausse du cours des denrées alimentaires, qui a entraîné depuis 2007 des "émeutes de la faim" en Afrique et en Asie.
- La production de l'éthanol implique un travail physique éprouvant dans les champs de canne à sucre, dénoncé par Amnesty International.



CHAPITRE II : PRESENTATION DE LA  
MATIERE PREMIERE  
« LES DATTES »

## **II. Présentation de la matière première « les dattes »**

### **II.1 Introduction**

La datte a toujours été depuis les temps immémoriaux un élément important de l'alimentation tant pour les humains que pour les animaux. Elle est constituée un excellent aliment, de grande valeur nutritive et énergétique, sa production mondiale s'élève à plus de 58 millions de tonnes plaçant ainsi l'Algérie au 4<sup>ème</sup> rang des pays producteurs de dattes, dont 30% sont des dattes communes à faibles valeurs marchandes pour la plus part destinées à l'alimentation du bétail (FAO, 2007).

Les dattes sont particulièrement riches en sucres et en éléments minéraux. Les fruits de dattes, y compris les variétés sèches, sont un véritable concentré de calories avec plus de 50% de sucres par rapport à la matière sèche [18]. La palmeraie algérienne représente le pivot de l'écosystème oasien à travers une prédominance du palmier dattier, selon les statistiques du Ministère de l'agriculture. La production nationale a atteint 550 000 tonnes en 1998 dont 30 à 50 % sont constitués de déchets et de dattes de faible valeur marchande, soit environ 100.000 à 150.000 tonnes qui pourraient être valorisés [19]. Cette valorisation, grâce aux procédés biotechnologiques, permet de mettre sur le marché national une nouvelle génération de produits souvent importés. Parmi les quelques substances à forte valeur ajoutée, on peut citer l'alcool éthylique, substance énergétique stratégique et base de nombreuses industries.

### **II.2 Définition**

La datte est le fruit du palmier dattier est une baie, souvent allongée, avec une pulpe épaisse et charnue. Elle renferme une seule graine très dure, plus ou moins volumineuse connue communément par le «noyau». Sa couleur est variable, à maturité, du jaune doré au rouge sombre presque noir. Ses dimensions sont très variables, son goût consistant et ses formes sont également variables, selon les lieux et les variétés des dattes.

### II.3 Les catégories de dattes

La classification des dattes peut être basée sur la forme, la texture et les propriétés organoleptiques de la datte. Il existe trois catégories de dattes : molles, demi molles et sèches [20].

**Dattes molles** : leur teneur en eau est supérieure à 30%, elles sont principalement composées de sucres réducteurs : glucose et fructose

**Dattes demi –molles** : leur teneur en eau varie entre 20 à 30 %, elles sont riches en saccharose.

**Dattes sèches** : leur teneur en eau est moins de 20 %, elles sont à base de saccharose...

La classification du palmier dattier dans le règne végétal [21].

**Groupe** : Spadiciflores

**Ordre** : arecals

**Famille** : arecaceae

**Sous Famille** : Coryphoïdées

**Tribu** : Phoenicées

**Genre** : Phoenix

**Espèce** : Phoenix dactylifera

### II.4 Caractéristiques morphologiques des dattes

La datte est constituée d'une partie charnue (la chair) et d'un noyau. Les dattes Présentent des caractéristiques morphologiques différentes en fonction du cultivar considéré. Elles varient selon : la couleur, la forme, le goût, la taille, le poids, .... Une datte est dite de qualité acceptable, quand elle présente [22].

- Aucune anomalie et aucune altération
- Un poids supérieur ou égal à 6 g
- Un poids en pulpe supérieur ou égale à 5 g
- Une longueur supérieure ou égale à 3,5 cm

## **II.5 Caractéristiques physicochimique des dattes**

### **II.5.1 Teneur en eau**

D'une manière générale, les dattes présentent des humidités inférieures à 40 %. Elles sont classées parmi les aliments à humidité intermédiaire, dont la conservation est relativement aisée [23].

### **II.5.2 pH**

Le pH de la datte est légèrement acide, il varie entre 5 et 6. Ce pH est préjudiciable aux bactéries pathogènes mais approprié au développement de la flore fongique [24].

### **II.5.3 Acidité**

L'acidité de la datte est faible. Elle varie entre 2,02 et 6,3 g d'acide / Kg. Une forte acidité est souvent associée à une mauvaise qualité. L'acidité de la datte est proportionnelle à sa teneur en eau et donc inversement proportionnelle au degré de maturité [25].

## **II.6 Composition biochimique**

Les fruits des dattes contiennent la plupart des composés principaux tels que les glucides, les protéines, les vitamines et les sels minéraux...etc.

Le sucre et l'eau sont les constituants prédominants de la chair. C'est leurs proportions qui déterminent la consistance de la chair.

### **II.6.1 Sucres totaux et sucres réducteurs**

Les dattes contiennent essentiellement trois sucres majeurs (le saccharose, le fructose et le glucose). Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres tels que (la xylose, l'arabinose et le galactose,) mais ils sont en quantité négligeable, environ 1.6 % de la pulpe fraîche [26]. Les sucres réducteurs (glucose et le fructose), proviennent de l'inversion du saccharose (non réducteur); puisque l'invertase est forcément décelée à des taux différents dans un grand nombre de variétés de dattes [27].

Le tableau ci-dessous donne la composition en sucres de quelques dattes Algériennes [28].



**Tableau II-1:** Composition en sucres de quelques variétés de dattes Algériennes.

Variété		Pourcentage par rapport à la matière sèche		
Consistance	Appellation	Sucres totaux	Sucres réducteurs	Saccharose
Molle	Ghars	85.28	80.68	04.37
Demi molle	Deglet nour	71.37	22.81	46.11
Sèche	Degla baida	71.00	42.00	30.36

### **II.6.2 Les vitamines**

En général, la datte ne constitue pas une source importante de vitamines. La fraction vitaminique de la datte se caractérise par des teneurs appréciables de vitamine du groupe B (**Tableau II-2**). Ce sont des précurseurs immédiats des coenzymes indispensables à presque toutes les cellules vivantes et jouent un rôle primordial

Le tableau ci-dessous donne une idée sur la composition vitaminique moyenne des dattes [18].

**Tableau II-2 :** Composition vitaminique moyenne de la datte

Vitamines	Teneur moyenne pour 100 g
Vitamine C	2.00 mg
Thiamine (B1)	0,06 mg
Riboflavine (B2)	0,10 mg
Niacine (B3)	1,70 mg
Acide pantothénique (B5)	0,80 mg
Vitamine (B6)	0,15 mg
Folates (B9)	28,00 µg

### **II.6.3 Les éléments minéraux**

L'étude de 58 variétés de dattes cultivées dans la région des Zibans montre que le taux de cendres est compris entre 1,10 et 3,69 % du poids sec. La datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium, magnésium, le phosphore et le calcium [29].

Le tableau ci-dessous, donne la teneur en éléments minéraux des dattes Algériennes [30].

**Tableau II-3 :** Composition de 100 g de dattes en éléments minéraux

Elément minéraux	Quantité (mg)
Sodium (Na)	35
Potassium (K)	65
Phosphore (P)	57
Calcium (Ca)	63
Magnésium (Mg)	50
Fère (Fe)	1.9
Zinc (Zn)	0.34

#### **II.6.4 Les protéines**

La pulpe de datte ne renferme qu'une faible quantité de protéines. Les matières Protéiques représentent environ 2% de la matière fraîche. La composition en acides aminés des protéines de la pulpe de datte révèle la présence de 6 à 8 acides aminés indispensables pour l'Homme avec une absence de la méthionine et de phénylalanine [31].

#### **II.6.5 Les Lipides**

La pulpe des dattes contient une faible quantité de lipides. Elle est de l'ordre de 0,13% à 1,9 % du poids frais. Cette quantité de lipides est concentrée dans l'épicarpe de la datte [32].

#### **II.6.6 Les fibres**

Ces fibres se présentent sous forme de la pectine, la cellulose, l'hemicellulose et la lignine. Le pourcentage des fibres dans les dattes se différencie selon les variétés et leurs circonstances écologiques, les proportions les plus élevées sont enregistrées dans le cas des dattes communes qui sont particulièrement fibreuses [33].

### **II.7 Mise en valeur des déchets**

Les dattes abîmées et de faible valeur marchande peuvent être utilisées en raison de leur forte teneur en sucre pour la production de l'éthanol.

#### **II.7.1 La biomasse et protéines unicellulaires**

La production de protéines reste un objet essentiel afin de subvenir aux besoins mondiaux. A cet égard des essais de production de protéines d'organismes unicellulaires par culture de la levure *Saccharomyces cerevisiae* sur un milieu à base de dattes ont été réalisés.

#### **II.7.2 Les alcools**

Les dattes constituent un substrat de choix pour la production de l'alcool éthylique a été produit au laboratoire avec un rendement de 87 % [34].

### **II.7.3 Le vinaigre**

Les dattes peuvent être utilisées pour l'élaboration de nombreux produits alimentaires parmi lesquels le vinaigre. Ce dernier a été produit par culture de la levure *Saccharomyces* un extrait de datte [35].

### **II.7.4 Les aliments de bétail**

Les rebuts et les noyaux de dattes constituent des sous produits intéressants pour l'alimentation du bétail. La farine des noyaux de dattes peut être incorporée avec un taux de 10 % dans l'alimentation des volailles sans influencer négativement leurs performances [36].

## **II.8 Choix de la matière première**

- Les déchets de dattes cristallisent jusqu'à 65 % de sucres fermentescibles contre 18% pour la betterave ou 13% pour la canne à sucre.
- Sa culture s'adapte parfaitement à nos terres semi-arides et n'empiète pas sur les terres fertiles du nord du pays, consacrées aux céréales et autres, ceci répond à l'une des plus fortes des critiques faites à l'encontre de l'industrie du bioéthanol à usage de carburant, et la démarche de produire du bioéthanol à partir des biomasses, ne soustrait pas à la population mondiale des ressources importantes de son alimentation.
- Une exploitation rentable, nécessite la mise à disposition d'un produit pouvant être obtenu en grande quantité et à un prix relativement bas ; et les dattes communes ainsi que les déchets répondent parfaitement à cette exigence.
- La valorisation des rebuts de dattes par les procédés biotechnologiques représente une solution de choix dans la mesure où elle contribue à l'élimination de la pollution que subit l'environnement.
- Il est utile de signaler que l'Algérie importe l'ensemble de ses alcools éthylique. La production d'éthanol à partir des rebuts de dattes constituera une solution intéressante à envisager sur le plan économique. L'éthanol naturel peut remplacer avantageusement celui obtenu par voie chimique à partir des produits pétroliers [37].

# CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

### III. Matériel et Méthodes

#### III.1 Matériel végétal

Deux variétés de dattes « Hamraya » et « kentichi » sont très répandues dans les palmeraies au sud-est Algérien. Elles ont été récoltées durant le mois décembre 2015

Le choix de ces variétés a été motivé par leur disponibilité et leur faible valeur marchande, elles sont destinées à l'alimentation du bétail, ces dattes sont riches en sucres

La variété *Kentichi* (**Figure III-1**) appartient à la catégorie des dattes sèches, elle est récoltée pendant la période s'étalant du 4/03/2016, elle est originaire de Biskra, cette variété est très reconnue par son abondance, sa richesse en sucres et par sa faible valeur marchande.

la seconde variété Hamaraya appartient (**Figure III-2**) à la catégorie de dattes molles et provient de la ville de Oued Souf. Elle se consomme généralement dans les régions où elle est produite, et ce en raison des difficultés de sa conservation.



**Figure III-1** : La variété Kentich



**Figure III-2:** La variété Hamraya

### **III.2 Matériel microbiologique**

Nous avons utilisé une souche de levure pure de type *Saccharomyces Cerevisiae* nommée S1. La souche utilisée dans notre étude a été isolée et purifiée localement au niveau de laboratoire de microbiologie du département de chimie industrielle et conservée à 4°C sur gélose YEPD incliné.

#### **III.2.1 Caractéristiques culturelles de *Saccharomyces cerevisiae***

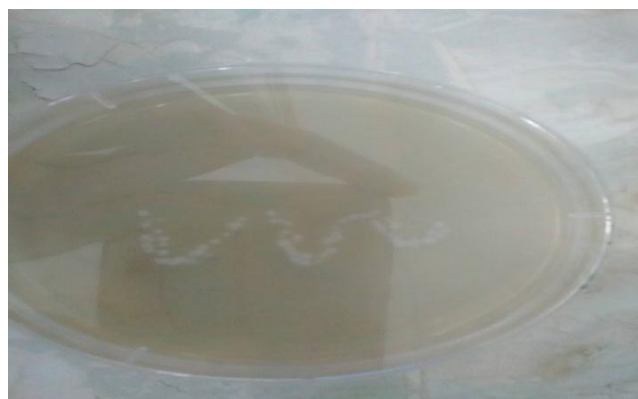
##### **III.2.1.1 Croissance sur milieu solide**

Milieu solide sabouraud

**Couleur :** crèmes, brillantes.

**Forme :** bombées et lisses.

Absence de pigmentation



**Figure III-3 :** Aspect culturelle de *Saccharomyces cerevisiae* sur milieu Sabouraud

### **III.3 Méthodes**

#### **III.3.1 Préparation du moût de dattes**

Pour la préparation des différents moûts, des opérations telles que le lavage, l'égouttage, le séchage, le dénoyautage et le broyage des dattes sont effectués. Les dattes ainsi traitées sont ensuite diluées à raison d'un kilogramme de pulpes pour quatre litres d'eau distillée.

#### **III.3.2 Lavage des dattes**

A pour but de débarrasser les dattes des grains de sable, la poussière et de diminuer la charge microbienne.

#### **III.3.3 Dénoyautage**

Le noyau bien qu'il soit riche en protéines et en glucides, ne peut pas contribuer à l'enrichissement de notre milieu, car il est dur et n'est pas facilement attaqué par les enzymes microbienne. En plus, il provoque des problèmes mécaniques au cours du broyage. Pour cela le dénoyautage est une opération indispensable, et s'effectue à la main.

#### **III.3.4 Egouttage et séchage**

Ces opérations ont l'avantage d'éliminer l'eau supplémentaire du lavage pour ne pas modifier la consistance de la datte. Le séchage se fait à l'air libre.

#### **III.3.5 Broyage et hydratation**

Le broyage a pour but de maximiser l'extraction des sucres et de rendre le milieu plus homogène. Il a été effectué par agitateur électrique qui va assurer l'homogénéisation du milieu.

Les dattes -ainsi traitées- sont ensuite diluées en ajoutant 1 litre d'eau distillée à 250g de pulpes et le tout porté au bain-marie à 80°C pendant 45 min, sous agitation continue.

Le milieu chaud assure une meilleure extraction des sucres, une pasteurisation du milieu et aussi une bonne macération de la pulpe.



### III.3.6 Filtration et stérilisation

Une fois le jus refroidi, ce dernier est filtré à travers un papier filtre en activant l'aspiration sous vide, et cela pour maximiser son extraction, puis le pH est ajusté à 4.

Vu la faible teneur du moût en éléments nutritifs, et pour favoriser la prolifération des levures, nous avons ajouté les sels suivants : 0.75 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.50 g/l  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 0.25 g/l  $\text{MgSO}_4$ , 0.20 g/l  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.20 g/l  $\text{NaCl}$ , 1 ml Oligoéléments (voir l'annexe N°1).

### III.3.7 Préparation de l'inoculum

les souches entretenues sur milieu gélosé incliné doivent être réactivées sur milieu de pré culture identique au milieu de culture .A cet effet ,nous prélevons à l'aide d'une anse stérile des colonies de la levure que nous ensemençons dans un erlenmeyer de 200ml contenant 300 ml de moût pour la percuter qui dure 18 heures à 30 °C les même condition de multiplication que les différents milieux étudié.

### III.4 Dispositif utilisé pour la fermentation alcoolique

Le dispositif utilisé pour le procédé de fermentation est un ballon tri-col (**Figure III-4**) ses trois ouvertures nous permettent d'effectuer les opérations suivantes :

Contrôler la température de fermentation

Effectuer les prélèvements

Vérifier le dégagement du  $\text{CO}_2$



**Figure III-4 : Dispositif de la fermentation alcoolique pour les deux variétés  
Hamraya et KentichI**

### **III.5 Mise en œuvre de la fermentation**

Cette étape est conduite dans un ballon tri-col de 2 litre rempli au 3/4 de sa capacité, le bioréacteur est plongé dans un bain-marie où la température est maintenue à 30 °C. La fermentation se passe en anaérobiose pendant 9 jours, Toutefois la fermentation est favorisée par une agitation 200 tr/min.

Les solutions sont inoculées à raison de 40ml de solution de pré fermentation dans un 1 litre de moût. Puis le processus de multiplication des levures est déclenché.

Pour suivre l'évolution de la fermentation, on procède chaque 24 heures à des prélèvements pour effectuer les analyses physico-chimiques et détecter l'odeur de l'alcool dans le moût. Après 9 jours la fermentation est arrêtée.

Au cours de la fermentation, nous avons suivi:

L'acidité du moût à l'aide d'un pH mètre

- Le taux de glucose
- Le degré alcoolique
- L'évolution de la biomasse microbienne

### **III.6 Les différentes analyses effectuées**

#### **III.6.1 Analyse physique et morphologique des dattes**

Les analyses physiques effectuées sont les suivants :

**La couleur :** déterminée visuellement

**La consistance :** déterminée en touchant les dattes soit elle est molles ou demi molles ou sèche

**Longueur et diamètre du fruit des dattes :** nous prenons 10 dattes dont on mesure la longueur et le diamètre.

**Poids de pulpe et de noyau de dattes ;** 10 dattes sont dénoyautés et les pulpes et noyaux pesés.

## **III.6.2 Analyse biochimique**

### **III.6.2.1 Détermination de la teneur en eau**

**Principe :** La teneur en eau a été déterminée par dessiccation de 1g de broyat de dattes dans une capsule de porcelaine puis séchée dans une étuve à une température de  $103 \pm 2$  °C [38].

**Mode opératoire :**

- on procède d'abord par un séchage des capsules dans l'étuve à  $130 \pm 2$ °C pendant 15 à 20 minutes.
- On laisse les capsules se refroidir dans un dessiccateur pendant 15 à 20mn.
- On Pèse les capsules vide ( $m_0$ ) puis les repesées avec la prise d'essai de 1g de broyat de dattes ( $m_1$ ).
- On introduit les capsules avec la prise d'essai dans l'étuve pendant 3 heures
- On retire les capsules de l'étuve et les placer dans un dessiccateur pendant 15 à 20 min; après leur refroidissement, les capsules sont pesées ( $m_2$ ). (la valeur moyenne de 3 essais pour chaque variété).

**Expression des résultats**

La teneur en eau est exprimée selon la formule suivante :

$$H\% = (m_1 - m_0 - m_2) \times 100$$

Soit :

H% : Humidité.

$m_0$  : Masse de la capsule vide.

$m_1$  : Masse de la capsule + matière fraîche avant étuvage.

$m_2$  : Masse de l'ensemble après étuvage.

### **III.6.2.2 Détermination du pH**

**Principe**

La détermination du pH, est essentielle pour le contrôle du moût, avant et au cours de la fermentation. Sa variation nous renseigne sur l'activité métabolique de la levure au

cours la transformation des sucres en alcool. La détermination du pH s'effectue par une lecture directe à l'aide d'un pH-mètre.

#### **Mode opératoire**

- On prend un certain volume du moût de dattes dans un bécher.
- On plonge l'électrode dans la solution en prenant soin qu'elle soit complètement immergée dedans.
- L'opération s'effectue trois fois pour chaque variété.

#### **Expression des résultats**

Le pH est mesuré par une lecture directe de la valeur indiquée sur le pH-mètre.

### **III.6.2.3 Détermination du taux de cendres**

#### **Principe**

La pulpe de dattes broyée et calcinée à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant.

#### **Mode opératoire**

- On procède d'abord par un séchage des capsules dans le four à  $550 \pm 15^\circ\text{C}$  pendant 15 à 20 minutes.
- On laisse les capsules refroidir dans un dessiccateur pendant 15 à 20mn.
- On Pèse les capsules vides ( $m_0$ ) puis une nouvelle pesée est effectuée avec la prise d'essai de 2g de broyat de dattes ( $m_1$ ).
- On introduit les capsules avec la prise d'essai dans le four pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre.
- On retire les capsules de l'étuve qui seront placées dans un dessiccateur pendant 15 à 20 min; après leur refroidissement, les capsules sont pesées ( $m_2$ ). (la valeur moyenne de 3 essais pour chaque variété).

#### **Expression des résultats**

$$C(\%)MF = (m_1 - m_0 - m_2) \times 100$$

Soit :

$m_0$  : Masse de la capsule vide.

$m_1$  : Masse de la capsule + prise d'essai.

$m_2$  : Masse de la capsule+ cendres.

### **III.6.2.4 Détermination de l'acidité titrable**

#### **Principe**

Le principe consiste à effectuer un titrage de l'acidité d'une solution aqueuse avec une solution d'hydroxyde de sodium en présence de la phénolphthaléine comme indicateur [39].

#### **Mode opératoire**

- On pèse 25g d'échantillon de broyat de dattes.
- On les place dans un erlenmeyer avec 50ml d'eau distillée, on remet le tout dans un bain marie et on chauffe sur une plaque chauffante pendant 30 mn.
- On refroidit puis on filtre.
- On prélève à la pipette 25 ml du filtrat en le mettant dans un bécher.
- On ajoute quelques gouttes de phénolphthaléine tout en agitant.
- On procède au titrage avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes

#### **Expression des résultats**

L'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide citrique pour 100g de produit :

$$A \% = (250 \times V1 \times 100 / V0 \times M \times 10) \times 0,07$$

Soit :

M : masse, en gramme du produit prélevé.

V0 : Volume en millilitres de la prise d'essai.

V1 : Volume de la solution d'hydroxyde de sodium

0,07 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique.

### **III.6.3 Dosage des sucres**

#### **III.6.3.1 Dosage des sucres réducteurs initiaux**

- **Principe :**

Cette méthode basée sur la réduction de liqueur de Fehling par les sucres réducteurs contenus dans l'échantillon [40].

#### **Mode opératoire**

Dans une première étape, étalonner la liqueur de Fehling à l'aide d'une solution de glucose à 5%.

En suite par comparaison, on détermine la quantité des sucres contenue dans l'extrait de datte.

#### **Etalonnage**

Introduire dans un erlenmeyer :

10ml de solution de Fehling A (voir dans l'annexe 1 le mode préparation)

10ml de solution de Fehling B (voir dans l'annexe 1 le mode de préparation)

30ml d'eau distillée

On Verse en petites quantités la solution de glucose à 5% contenu dans un burette graduée jusque à la décoloration de liqueur de Fehling et la formation d'un précipité  $\text{Cu}_2\text{O}$  rouge.

#### **Dosage**

- Remplacer la solution de glucose par l'extrait préparé et dilué
- Introduire dans un erlenmeyer:
  - 10ml de solution A
  - 10ml de solution B

- 30ml d'eau distillée
- Opérer comme précédemment

### **Expression des résultats**

$$R = f \frac{5N}{N'}$$

Soit :

R : La quantité des sucres réducteurs en g/l

N ; Le nombre de ml de solution de glucose à 5% utilisée

N' ; Le nombre de ml de filtrat utiliser pour la décoloration de liqueur de Fehling

f : Le facteur de dilution.

### **III.6.3.2 Dosage des sucres réducteurs totaux par la méthode Dubois**

#### **Principe**

La méthode Dubois permet de doser les oses en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré. En présence de ces deux réactifs, les sucres donnent une couleur jaune crème, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des sucres totaux. La densité optique est déterminée à 490 nm [41].

#### **Mode d'opérateur**

Cette méthode consiste à préparer, une gamme étalon à partir d'une solution de glucose à 0,01%. Les données sont résumées (Annexe 1)

- Ajouter à la gamme préparée et les tubes d'échantillon : 0,1 ml d'une solution de phénol à 80%
- 4 ml d'acide sulfurique concentré
- Mélanger lentement et légèrement
- Laisser la réaction se faire à une température de 20 - 30°C pendant 15 mn, puis refroidir les tubes pour arrêter la réaction

- Faire une lecture dans un spectrophotomètre UV visible à une longueur d'onde de 490 nm.

### **III.6.3.3 Teneur en saccharose**

Teneur en saccharose en % = (SRT – SRI) × 0,95 [42].

- SRT : Sucres réducteurs totaux.
- SRI : Sucres réducteurs initiaux.

### **III.6.4 Le degré alcoolique**

Le degré alcoolique (d°) correspond au volume d'éthanol (alcool) en ml présent dans 100 ml de jus fermenté, nous avons tout d'abord effectué l'étape de la distillation puis doser l'éthanol du distillat grâce au titrage et cela après son oxydation avec une solution de dichromate de potassium concentrée dans un milieu acide [43].

Dans un erlenmeyer :

On introduit 10 ml de dichromate de potassium ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ ,  $\text{K}^+$ ) à 0,5M.

- 5 ml d'acide sulfurique concentré (afin d'accélérer la réaction).
- 5 ml de distillat.
- On bouche l'erlenmeyer afin d'avoir une oxydation complète de l'alcool et l'agiter pendant 15 à 20 mn.
- On titre l'excès de dichromate au moyen d'une solution de sulfate de fer et d'ammonium à 0.5M (on agite l'erlenmeyer après chaque addition) jusqu'à la coloration vert émeraude.

### **Expression du résultat**

$$D^\circ = \frac{100 \times 3/2 \times M(\text{CH}_3\text{COOH}) \times ([\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}] \times V(\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}) - [\text{Fe}^{+3}] \times V_{\text{E}}/6)}{\rho(\text{CH}_3\text{COOH})}$$

$\rho(\text{CH}_3\text{COOH})$  : Densité

### **III.6.5 Teneur en biomasse active en terme de matière en suspension**

La matière fraîche est séparée par centrifugation à 3500 tours/ min pendant 15 mn, le culot obtenu est lavé deux fois avec de l'eau distillé stérilisée. On centrifuge à chaque

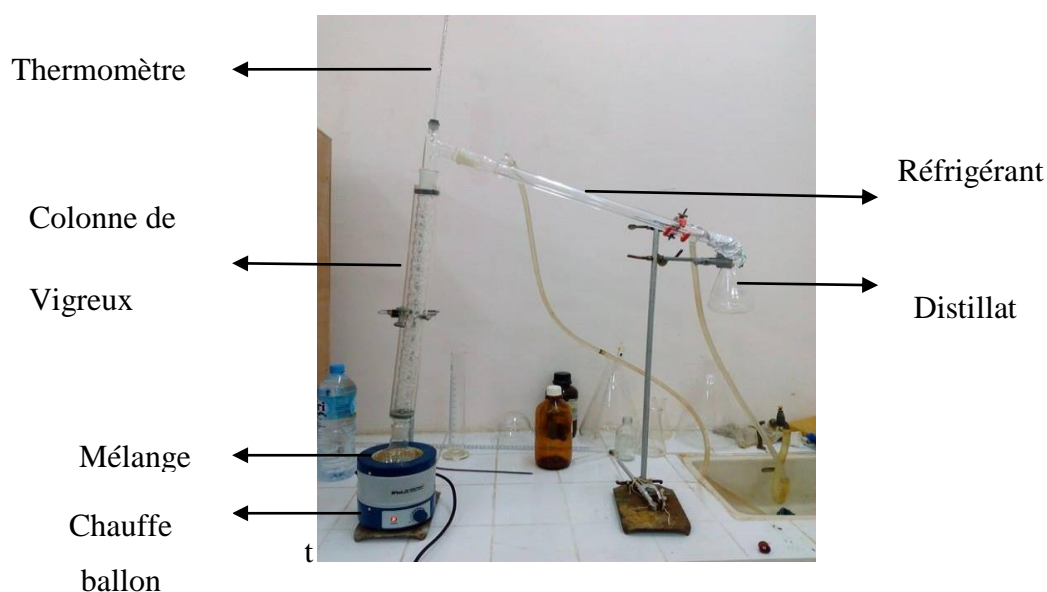


lavage, on pèse le culot pour déterminer la quantité de matières fraîche produite puis déshydraté, dans une étuve à 75°C durant 18-24 heures pour déterminer le poids de la biomasse en matière sèche [44].

### III.7 La Distillation

La premier étape après la fermentation est réalisée un montage de distillation (**Figure III-5**) La température de distillation ne doit pas dépasser 78°C jusqu'à récupération du distillat, la durée moyenne de cette étape était de quarante minutes.

Nous avons opté pour une deuxième distillation afin d'obtenir un alcool plus pur.



**Figure III-5;** Montage de distillation

### III.8 La déshydratation

L'éthanol est produit par fermentation. Il doit être préalablement déshydraté pour obtenir des niveaux d'eau très faibles compatibles avec ses utilisations finales. La technique de déshydratation adoptée dans le cadre de notre travail est le tamis moléculaire. Ce dernier est un matériau synthétique, sous forme de sphères de 2mm de diamètre et de 3A° de porosité, ce filtre moléculaire à été introduit dans une colonne de séparation pour permettre la déshydratation qui est basée sur la propriété d'adsorption sélective de l'eau dans le tamis, tandis que l'éthanol passe à travers.

### III.9 Vérification de la pureté

L'indice de réfraction est une bonne manière de vérifier la concentration d'alcool recueilli. L'indice de réfraction est le rapport de la vitesse de la lumière dans le vide divisé par la vitesse de la lumière dans le milieu [45].

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

$$n^{20} = n^T + 0,00045 \times (T - 20)$$

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

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

### III.10 Méthodes d'identification

#### III.10.1 Par chromatographie en phase gazeuse

L'identification des composants d'un alcool reste une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques qui sont dans certains complémentaires.

La technique incontournable pour individualiser les constituants d'un mélange reste la chromatographie en phase gazeuse (CPG) son couplage à un détecteur à ionisation de flamme (DIF) permet la quantification des constituants et calcul de leur indices de rétention.

Cette technique nous permet d'affirmer que notre échantillon ne renferme qu'un seul constituant qui est l'éthanol. La quantité injectée est de 0,02 µL.

Les conditions opératoires de l'analyse par CPG sont:

Colonne OV17

Type de détecteur : FID

Débit 18 ml/mn

Pression : 120 m pascal

Température de la colonne : 85 °C

Température de l'injecteur : 200°C

Température de détecteur: 220° C

Le chromatogramme obtenu permet de déterminer l'aspect qualitatif de notre produit.

Afin d'identifier d'autres traces d'impuretés pouvant exciter dans notre échantillon, nous avons établi une programmation de la température du four allant de 85°C jusqu'à 200°C, avec une pente égale à 8°C / mn.

Le chromatogramme obtenu permet de détecter d'autres composants susceptibles d'être présents possédant une température d'ébullition plus élevée.

# CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

#### IV. Caractéristiques morphologiques, physique et biochimique des dattes

##### IV.1 Caractères physiques et morphologiques des dattes

Les résultats suivants concernant la consistance, la couleur, la taille et le poids des dattes et aussi calcul des ratios (longueur /largeur, noyau /dattes, pulpe /dattes ) des deux variétés Hamraya et Kentichi

**Tableau IV-1:** caractéristiques morphologiques et physiques de dattes

Caractéristiques	Hamraya	Kentichi
Couleur	Noir	Marron
Consistance	Molle	Sèche
Forme	Ovoïde	Fuselée
Longueur de dattes en (cm)	$3.1 \pm 0.19$	$3.18 \pm 0.13$
Diamètre de la datte en (cm)	$2.53 \pm 0.22$	$1.57 \pm 0.05$
Poids de la datte en (g)	$10.55 \pm 1.93$	$4.63 \pm 0.3$
Poids de la pulpe en (g)	$9.38 \pm 1.63$	$3.75 \pm 0.25$
Poids de noyau en (g)	$1.17 \pm 0.3$	$0.87 \pm 0.16$

La morphologie des dattes donne une idée sur la variation variétale et la bonne préparation de mout des deux variétés Hamraya et Kentichi. Nous remarquons une couleur déférente Hamraya a une couleur noire et une consistance molle par contre Kentichi a une couleur marron et une consistance sèche. Aussi les dattes cultivar du

Hamraya ont une forme ovoïde par contre la deuxième variété a une forme fuselée et par rapport à la taille des dattes 3,1 cm, 3,18 cm respectivement du Hamraya et

Kentichi .Concernant le poids de dattes avec noyau et sans noyau, nous remarquons que ces derniers sont respectivement 10,55 g, 4,63 g du Hamraya et Kentichi respectivement

Avec noyau et par rapport au poids de la pulpe 9,38 pour Hamraya 3,75 pour Kentichi nous revenons au poids de noyau seul sont respectivement 1,17 g et 0,87g du Hamraya et Kentichi.

#### IV.2 Caractéristiques physicochimiques et composition de moût de dattes

Les valeurs de la caractérisation du moût de dattes pour les deux cultivars, concernant la teneur en eau, en sucre, et en cendres et aussi le pH pour les deux cultivars sont reportées dans le tableau suivant :

**Tableau IV-2:** Caractéristiques physicochimiques de mout des dattes (Hamraya et Kentichi).

Paramètres	Hamraya	Kentichi
Teneur en eau en % MF	21 ,40 ± 0.18	19.80 ± 0.22
Teneur en cendre (%)	1.02 ± 0.06	0,80 ± 0,08
Ph	4.99 ± 0.03	5.31 ± 0.06
Acidité en g/kg MF	4.2 ± 0.08	3.8 ± 0.05
Sucre réducteurs en g/l MF	25.3 ± 0.08	20.08 ± 0.03
Sucre totaux en g/l MF	79.2± 0.36	71.3 ± 1.18
Saccharose en g/l MF	51.20	57.20

Tout processus de fermentation est lié à la qualité du milieu utilisé. Par conséquent, une connaissance du moût est indispensable pour réussir le déroulement de la fermentation.

Les résultats obtenus montrent que la teneur en eau des deux variétés est élevée chez Hamraya soit 21,40% MF par rapport à Kentichi est 19,80 % MF, ce qui indique une consistance demi molle relativement sèche.

Concernant la teneur en cendre elle varie entre 1,02 pour Hamray .et 0,80 pour Kentichi, les résultats de l'analyse montre que le moût de dattes est assez riche en sels minéraux, Aussi, l'ajout d'autres éléments nutritifs nous à été nécessaire, afin de couvrir tout besoin de la levure *Saccharomyce cerevisiae*.

Le pH est situe entre 4,99 et 5,31 pour les deux variétés, ces valeurs sont considérées comme faibles, d'où l'acidification de ce dernier par l'ajout du l'acide sulfurique s'avère nécessaire pour permettre un bon développement de la levure *Saccharomyce cerevisiae* afin d'obtenir le moût de dattes.

Pour l'acidité titrable des deux variétés est respectivement de 4,2et 3,8 pour Hamraya et Kentichi. Cette acidité joue un rôle important.

Les résultats de la teneur en sucres obtenus sont élevés et sont de l'ordre 79,2% MF et 71,3% MF pour les deux variétés car les sucres sont les constituants les plus importants de la datte, et sont également responsables de la douceur de l'aliment.

Par ailleurs, on remarque que ces deux cultivas sont riches en sucre réducteurs (fructose et glucose), soit 25,3% MF pour Hamraya , 11,08% MF pour Kentichi cette dernier montre une teneur en sucre basse car elle est liée aux conditions d'extraction utilisée et à la datte elle même qui n'a pas atteint sa maturation biochimique.

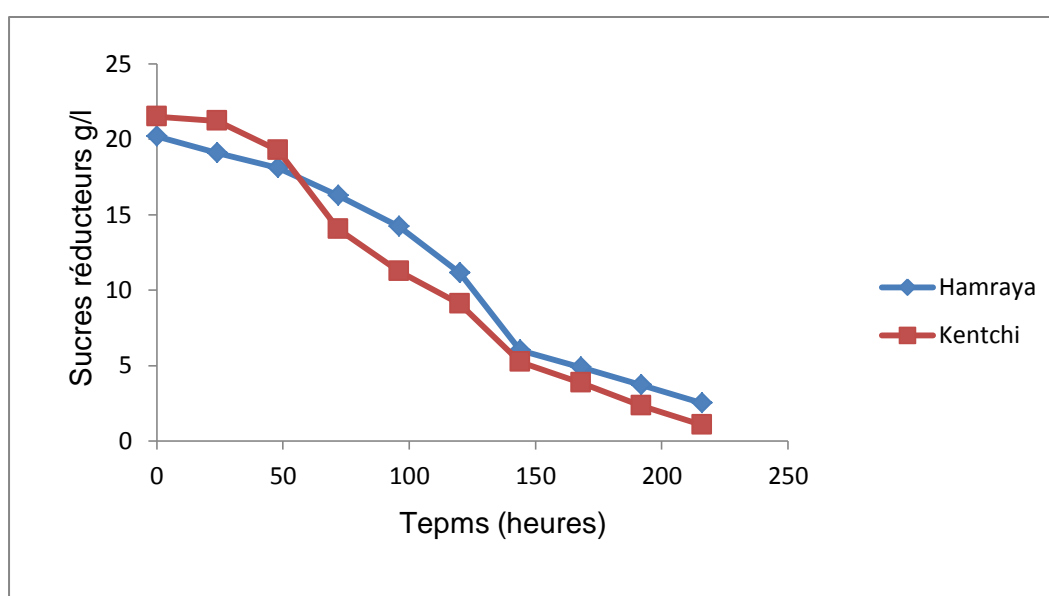
#### **IV.3 Résultats de la cinétique de la fermentation alcoolique**

Les deux paramètres essentiels qui nous renseignent réellement sur l'évolution de la fermentation alcoolique sont l'assimilation des sucres et la production de l'alcool, tout en prenant en considération la variation du pouvoir hydrophile qui reste un facteur important à déterminer. Cependant, nous avons remarqué une légère différence mais pas très significative de l'effet de la variété sur l'évolution de ces paramètres.

### IV.3.1 Suivi de l'évolution de la teneur en sucres réducteurs durant la fermentation alcoolique

Les résultats concernant l'évolution de la teneur en sucres réducteurs pour les deux variétés sont représentés dans (**Figure IV-1**).

Après 9 jours de fermentation des moûts, une importante dégradation du glucose est révélée. Cette transformation était surtout active après les 25 heures pour les deux variétés. Ainsi pour chaque moût les courbes d'assimilation des sucres réducteurs ont une allure décroissante comme le montre (**Figure IV-1**).



**Figure IV-1:** Evolution de la teneur en sucres réducteurs durant la fermentation alcoolique

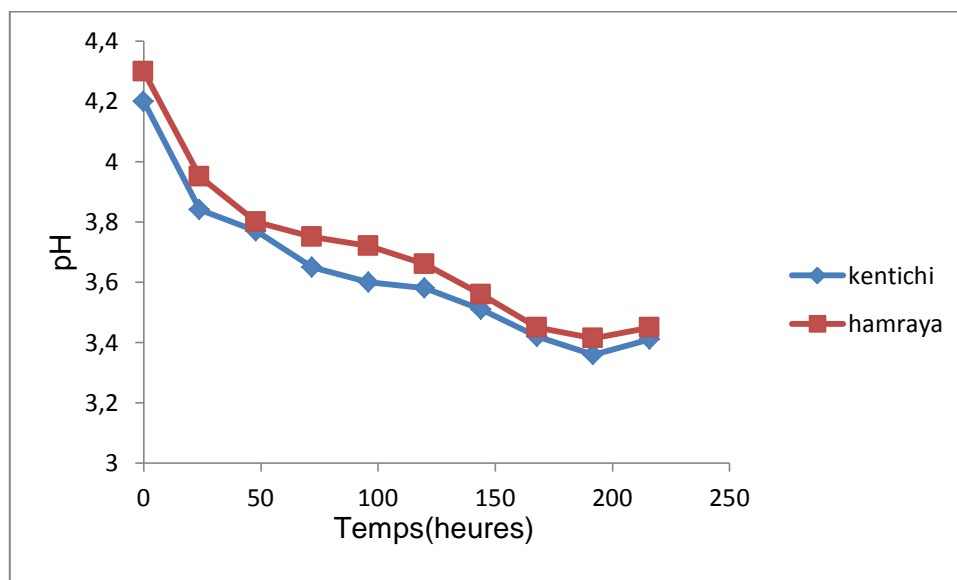
L'évolution de la variété « Kentchi » montre une courbe qui se situe au dessous de celle de « Hamraya » car l'intensité et la vitesse de dégradation des sucres réducteurs dans ce moût est supérieure à l'autre. Au début de la fermentation la quantité des sucres des deux variétés est de 21.5 g/l pour Kentchi et 20.2g/l pour Hamraya. Cependant, bien que cette quantité de sucres au cours de la fermentation diminue, presque une dégradation totale à la fin pour les deux variétés qui est de 1.06 g/l et 2.5% g/l respectivement pour Kentchi et Hamraya. Les proportions des sucres réducteurs sont d'une importance particulière dans la classification des dattes (moles,



demi-moles, sèche) .la proportion des sucres réducteurs est plus élevée pour les dattes moles que pour les dattes demi moles et sèche.

#### **IV.3.2 Suivi de l'évolution du pH durant la fermentation alcoolique**

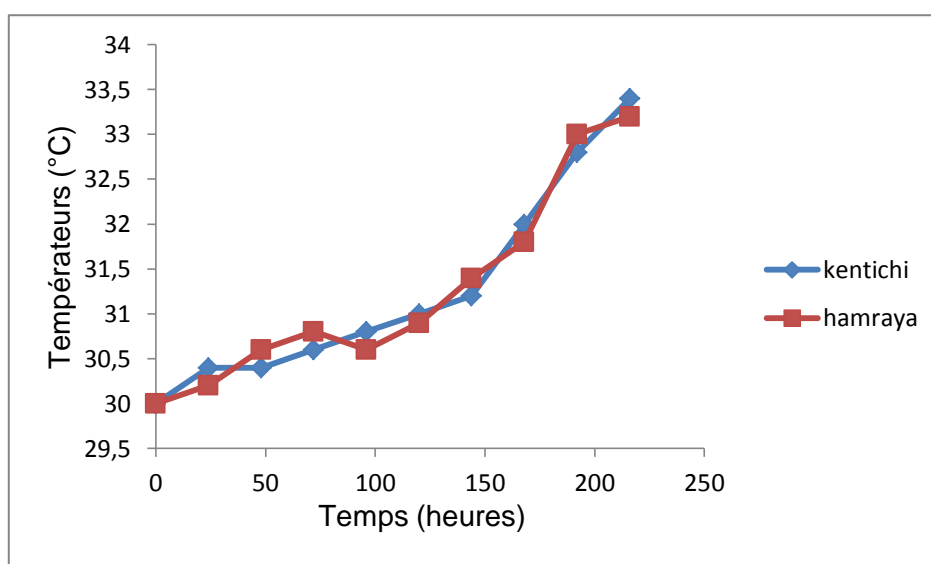
La détermination du pH est essentielle pour le contrôle d'une fermentation microbienne. Sa variation nous renseigne sur l'activité métabolique de la microflore .Nos résultats sont représentés dans la figure suivante :



**Figure IV-2:** Evolution du pH durant la fermentation alcoolique

Au cours de la fermentation, le pH tend de plus en plus vers une acidité pour les deux variétés pendant les premier 24 heures qui est 3.95 pour Hamraya, 3.84 pour Kentichi . Cette diminution est suivie d'une légère augmentation pendant les derniers jours pour les deux variétés est respectivement 3.45, 3.41 pour Hamraya et Kentichi .Ce ci est tout à fait logique car l'activité métabolique des levures fait abaisser le pH et rend le milieu plus acide (la libération des acides organiques due à la dégradation des sucres).l'évolution de pH est un bon indicateur de l'évolution de la fermentation.

### **IV.3.3 Suivi la variation de la température durant la fermentation alcoolique**

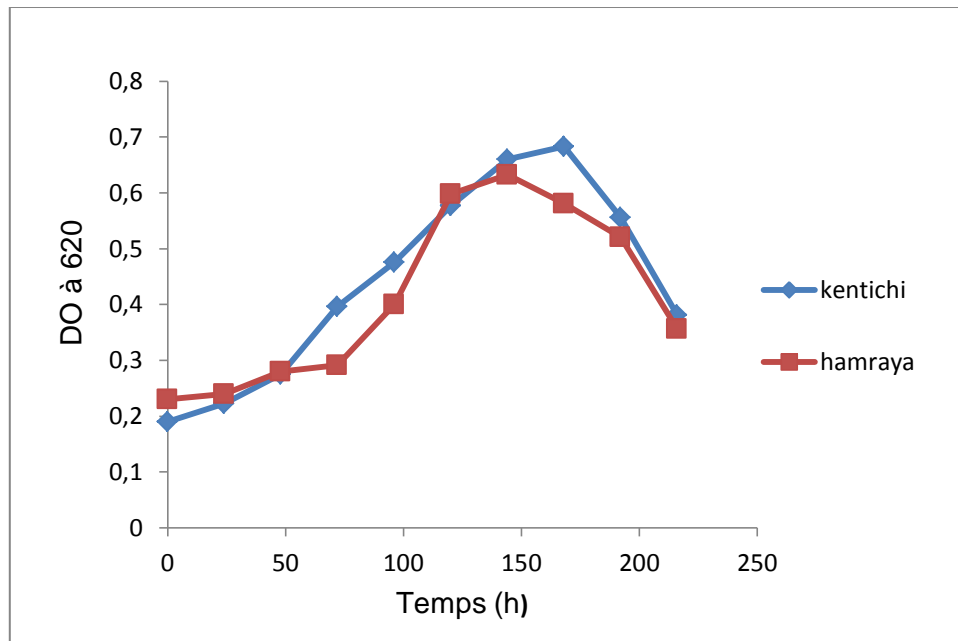


**Figure IV-3 :** la variation de la température durant la fermentation alcoolique

La figure IV-3 montre la variation de la température durant la fermentation en remarque en façon générale, la température passe par 30 °C pour les deux variétés Kentichi et Hamraya .cette dernier c'est la temperature initial de la fermentation. Au cours de la fermentation la température augment pour atteindre la valeur maximal qui est 33.4 pour variété Kentichi et 33.2 pour la variété Hamraya cette augmentation du au dégagement de CO<sub>2</sub> et les déférentes réactions dans le milieu car ce dernier il contient des éléments nutritifs pour favoriser la prolifération des levures.

### **IV.3.4 Suivi de la croissance microbienne de la souche**

Dans notre étude, nous avons suivi la croissance de notre souche de levure des deux variétés.



**Figure IV-4 :** la croissance microbienne de la souche

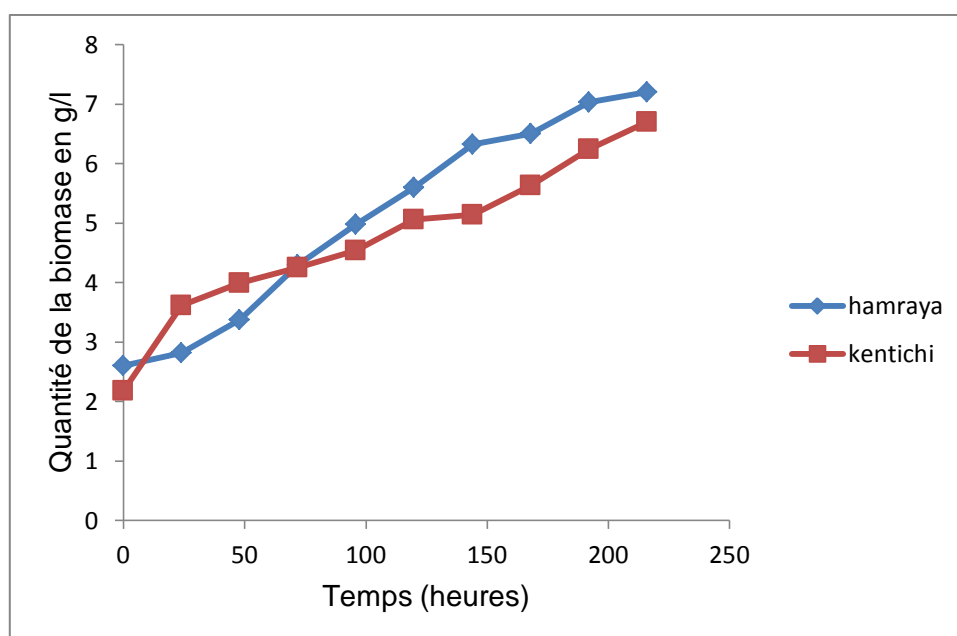
A partir des courbes en remarque que la croissance ne débute pas immédiatement mais seulement après une phase de latence on a 0.28 pour variété Hamraya et 0.275 pour variété Kentichi de durée variable, il s'agit d'une période d'adaptation au cours de laquelle la cellule synthétise les enzymes indispensables à l'assimilation des constituants du nouveau milieu de culture. Au cours de cette phase, il n'y a pas de reproduction cellulaire. A la suite de la phase de latence survient une phase d'accélération, au cours de laquelle la multiplication cellulaire démarre avec une vitesse spécifique de croissance de plus en plus grande pour les deux variétés Hamraya est 0.4 et 0.476 pour Kentichi. Après la phase d'accélération, une multiplication binaire se faisant à vitesse constante, La vitesse de croissance faible au début, subit une forte accélération et devient rapidement importante. La phase exponentielle ne représente en générale qu'une petite partie d'un cycle complet de la croissance d'une population qui est 0.598 et 0.577 respectivement pour Hamraya et Kentichi.

Cependant, la croissance cellulaire atteint son niveau maximum est 0.632 pour Hamraya et 0.659 pour Kentichi, le taux de croissance est nul, le métabolisme cellulaire et les biosynthèses peuvent encore être importants. Cette phase s'appelle la phase stationnaire qui permet de déterminer les rendements.

Enfin, les cellules ne se divisent plus, le nombre de cellules viables diminue, le taux de mortalité va augmenter progressivement et la concentration en biomasse décroît par suite de l'autolyse sous l'action des enzymes des cellules elle-même. Cette phase s'appelle la phase de déclin.

#### **IV.3.5 Suivi de la quantité de biomasse**

Le processus microbien fait intervenir la consommation de substrat et la formation de biomasse et du produit ainsi qu'un dégagement de chaleur. Les résultats en biomasse sont présentés dans la (Figure IV-5).

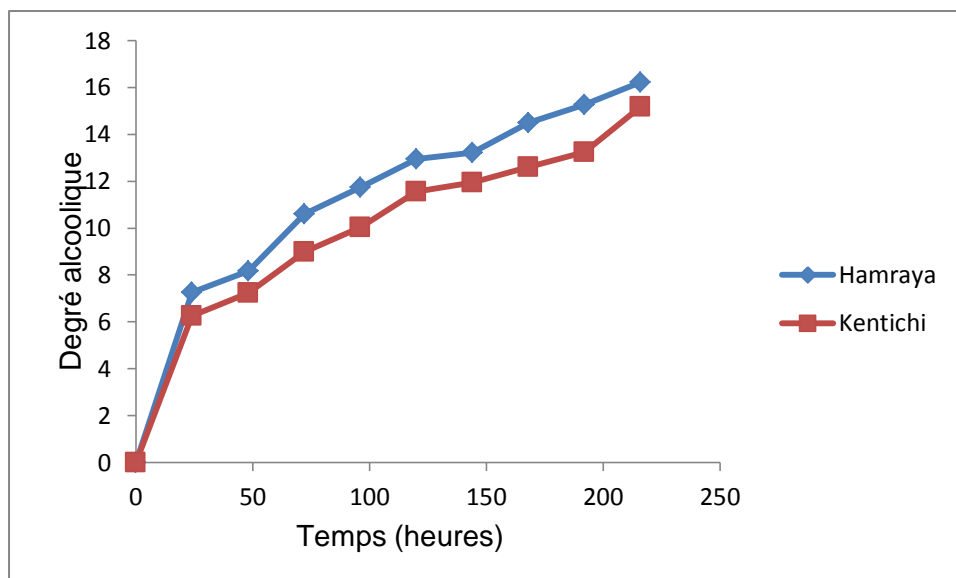


**Figure IV-5:** Suivi de la quantité de biomasse durant la fermentation alcoolique

Les résultats obtenus montrent que la grande production en biomasse est dans la variété Hamraya qui atteint 7.2 g/l, suivie par Kentichi (6.7 g/l). Cette production en biomasse est due à la richesse du milieu en éléments nutritifs qui favorise la bonne multiplication des levures *Saccharomyces cerevisiae*.

#### **IV.3.6 Suivi de l'évolution du degré alcoolique durant la fermentation alcoolique**

Les résultats concernant l'évolution du taux d'alcool éthylique pour les deux variétés sont représentés dans la (Figure IV-6).



**Figure IV-6 :** Evolution du degré alcoolique durant la fermentation alcoolique

La figure montre que le degré alcoolique s'augmente au fur et à mesure que la teneur en sucre diminue pour atteindre 16.23° pour Hamraya, 15.18° pour Kentichi pendant 9 jours de fermentation. La courbe de Hamraya a une allure plus croissante par rapport aux Kentichi, la vitesse de production est légèrement plus importante. Cette grande production d'alcool pour variété Hamraya due à la richesse en sucre et en sel minéraux.

#### IV.4 Rendement de l'éthanol et vérification de sa pureté

A la fin de la fermentation, le moût de dattes des deux variétés est distillé trois fois et le résultat du rendement en alcool était comme suit :

**Tableau IV-3 :** Résultats du rendement d'alcool

Quantité du jus fermenté	Quantité d'alcool hydraté
1000ml du jus de « Hamraya »	742ml
1000ml du jus « Kentichi »	658mL

Le meilleur rendement est celui obtenu par la variété Hamraya, après la distillation de notre jus fermenté on a obtenue une quantité d'alcool de cette variété est 742mL par rapport à variété Kentichi est 658mL.

#### IV.5 L'indice de réfraction

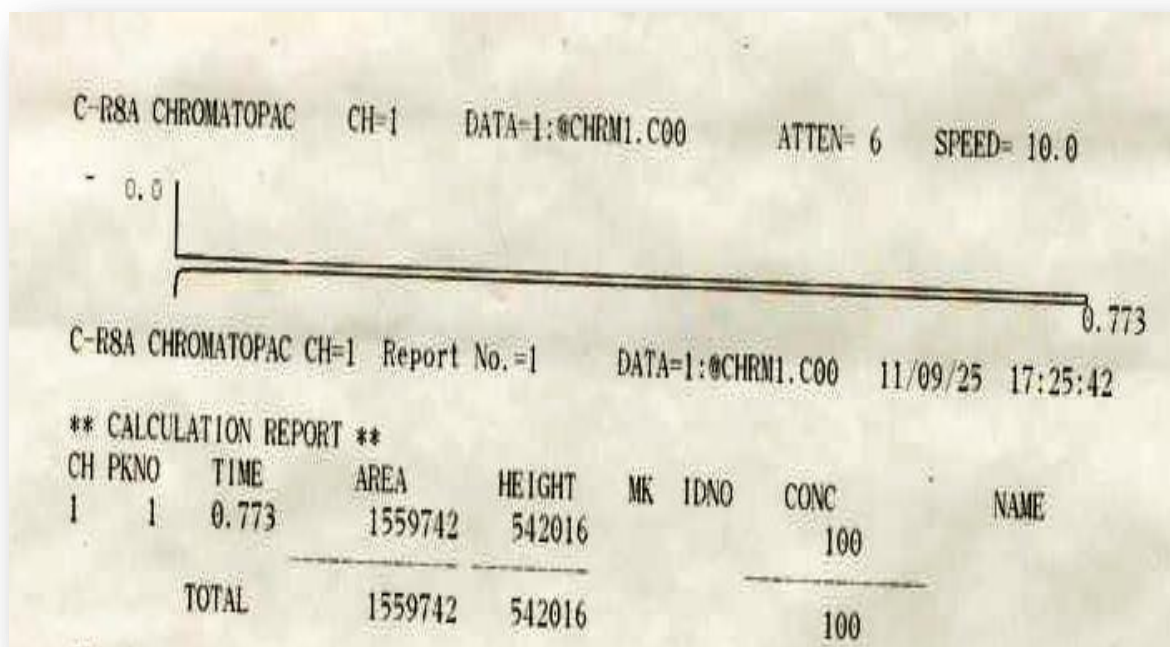
Une troisième distillation a été entreprise pour les deux échantillons recueilli, qui ont subit une déshydratation par la suite, d'où l'obtention d'un alcool à une concentration bien définit selon l'indice de réfraction, Les résultats sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau IV-4 :** Résultats de l'analyse de l'indice de réfraction

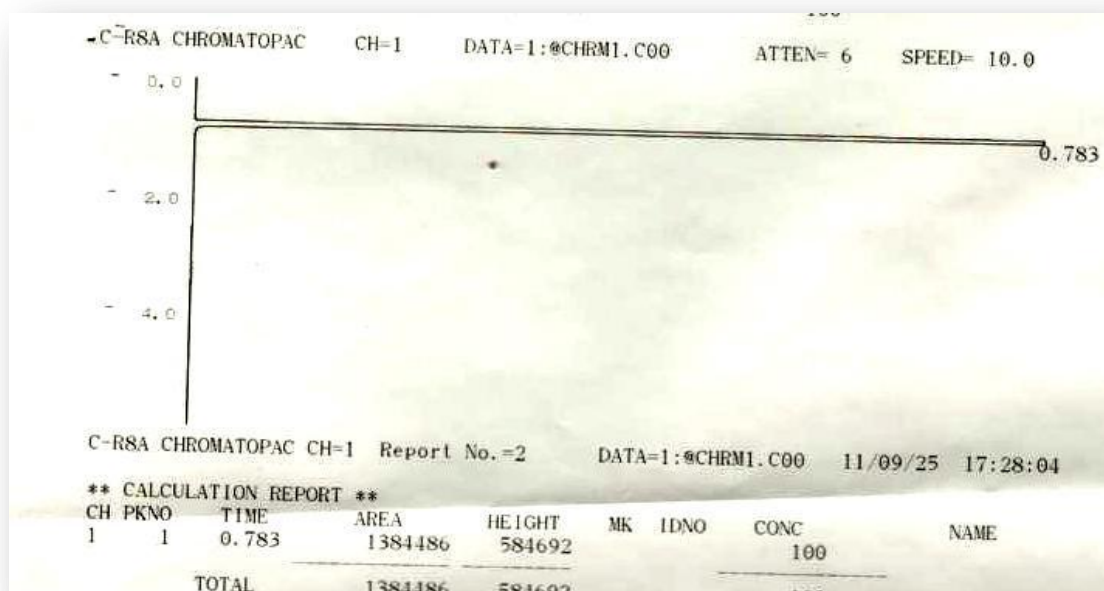
Les variétés	Indice de réfraction	Pourcentage d'éthanol volumique
Variété « Hamraya »	1.32975	576ml
Variété « Kentichi »	1.33365	50.23ml

#### IV.6 Résultats de l'identification du bioéthanol par chromatographie en phase gazeuse

Le distillat obtenu est fluide, incolore et concentré en alcool .Les résultats de l'analyse chromatographique CPG du mélange du bioéthanol des deux variétés ainsi que de l'éthanol à 99,8 % (étalon) sont montrés dans les figures suivantes :



**Figure IV-7** : Chromatogramme de l'éthanol absolu (étalon)



**Figure IV-8** : Chromatogramme du distillat alcoolique des deux variétés de dattes

D'après le chromatogramme obtenu, le distillat est d'une pureté très élevée, ce qui donne une importance particulière aux substrats et à la levure utilisées. L'identification de notre bioéthanol se fait à travers l'identification de son étalon, pour notre cas d'étude le temps de rétention ( $t_R$ ) des deux chromatogrammes est quasi proche, car il représente une valeur de 0,773 et 0,783 respectivement pour l'éthanol absolu et le bioéthanol.



# CONCLUSION GENERALE

## CONCLUSION GENERALE

L'opportunité d'un développement important des biocarburants a suscité de nombreuses Recherches ces dernières années. Notre travail s'inscrit dans cette lignée et aussi basé sur la valorisation des dattes de faible valeur marchande pour la production de bioéthanol.

A la lumière des résultats obtenus le moût de dattes apparaît comme un milieu riche, apte à réussir un processus fermentaire, avec une bonne productivité d'alcool.

L'étude biochimique du moût de dattes montre que ces derniers sont riches en sucres et en cendres.

Par ailleurs l'étude de la composition en sucres montre que le jus des deux variétés de dattes Hamraya et Kentichi est riche en sucre réducteurs facilement assimilables par la levure de *Saccharomyces cerevisiae*. Pour les deux variétés utilisées, les rendements en alcool sont très encourageants. Toutefois la valeur maximale du degré alcoolique obtenu concerne la variété « Hamraya » semblent la plus performante qui dispose d'un taux de sucre le plus élevé.

L'assimilation des sucres était presque totale pendant 216 heures, et le rendement en alcool est assez intéressant est de 16.23 ° pour Hamraya et 15.18° pou Kentichi .

Ce pendant, après une première distillation nous sommes parvenus à une quantité d'alcool, non négligeable, de 742 mL pour 1000 mL de jus fermenté (Hamarya) et 658 ml pour 1000 ml de jus fermenté (Kentichi). La deuxième distillation pour les deux échantillons recueillis ainsi que leurs déshydratations par tamis moléculaire nous a permis d'avoir un alcool plus concentré.

# REFERENCE BIOGRAPHIQUE

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] M.J. O'donohue et P. Debeire, Fractionnement de la biomasse lignocellulosique synthon, la chimie vert, Lavoisier, 2006
- [2] M. Cot, 'Etudes Physiologiques de l'Adaptation et de la Résistance de la Levure *Saccharomyces Cerevisiae* au Cours de la Production Intensive d'Ethanol', Thèse de Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, 2006.
- [3] A. Demirbas ;Fatih Demirbas, M.Algea Energy : Algae as a New Source of Biodiesel London ; Springer,2010,P.29-47
- [4] Document, «*Statistiquement Agricoles* »Ministère de L'Agriculture, (1998).
- [5] A. Touzi, 'Valorisation des Produits et Sous-produits de la Datte par les Procédés Biotechnologiques', Proceedings du Séminaire Méditerranéen : Le Palmier Dattier dans l'Agriculture d'Oasis des Pays Méditerranéens. Options Méditerranéennes, N°28, 1996
- [6] A.G. Elarem, G. Flamini, B.S. Emna, M. Issaoui, N. Zeyene, A. Ferchichi, M. Hammami, N.A. Helal, L. Achour, Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at three maturation stages, Food Chem., Vol. 127, pp.1744-1754, 2011
- [7] NATIONAL DE RECHERCHE ET DE LA SÉCURITÉ (1997)  
Fiche toxicologique n°48, Édition 1997 de l'INRS. Cahiers de notes documentaires. [RE-005509] <http://www.inrs.fr/htm/ethanol.html>, fichier pdf, 5 p. Site internet consulté le 29 septembre 2007.
- [8] Badger, P.C. 2002. Ethanol from cellulose: A general review. Dans: Trends in new crops and new uses. J. Janick ET A. Whipkey (edit.).
- [9] M. MRINI, F. SENHAJI et D. PIMENTEL, (2002). Research, Reviews, Practices, Policy and Technology – Energy Analysis of Sugar Beet Production under Traditional and Intensive
- [10] N.L PENNINGTON, C.W. ET BAKER. (1990). Sugar: A User's Guide to Sucrose. AVI Book. USA. 331 p.

- [11] AMIS DE LA TERRE (2007a). Éthanol : L'énergie du...désespoir ou comment affamer des millions de personnes ! Article écrit par Christian Berdot.
- [12] D.CROUZET, R. LAMBERT, F. PREBOIS. «La production de bioéthanol par les levures *Saccharomyces Cerevisiae* ». *Thèse*. (décembre 2008).
- [13] CRAAQ. la production d'éthanol a partir du grains de maïs et de céréales Canada : Publication n° EVC 029, 2008, 11p
- [14] A. Demayer, F. Jacob, M. Jay, G. Menguy et J. Perrier, 'La Bioconversion Bioénergétique', Ed. Tech. & Doc., Lavoisier, 1982.
- [15] M.J. O'donohue et P. Debeire, Fractionnement de la biomasse lignocellulosique en synthon, la chimie vert, Lavoisier, 2006
- [16] P. Colonna, La chimie verte .Ed TEC et DOC. Paris : La voisier,2006.532p.
- [17] Y. Sun and J. Cheng; « Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review »; *Bioresource* Vol. 83, N°1 , pp. 1- 11, 2002
- [18] A.BEN, AHMED.DILALI, M.AMRANI, M.AZOUAOU. A.DAMIR,S. BENAMARA 2010- Possibilité de fabrication d'un jus naturel à base d'un sirop de dattes communes et d'un extrait de Spiruline et jus de citron naturel. Vol. 10 (3) :1-14
- [19] Document, «*Statistiquement Agricoles* »Ministère de L'Agriculture, (1998).
- [20] I.BOOIJ, G. PIOMBO, J.M. RISTERUCCI., M.COUBE, D. THOMAS et M. FERRY, 1992. Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de Maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) .*Journal of fruits*, vol. 47N°6, pp : 667-677.
- [21] M. DJERBI, (1994). Le précis de phoeniculture. Ed. FAO, Rome: 52 – 58.
- [22] S. AÇOURENE, 2001. Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et Identification des cultivars rares de palmier de la région du Ziban, revue de l'I.N.R.A.A., N. pp : 21-38.
- [23] A. BENNAMIA, B. MESSAOUDI, 2006. Contribution à l'étude de la Composition des dattes « Deglet-Nour » et « Chars » dans le pédopaysage de la

cuvette de Ouargla. Mémoire de Diplôme d'Etude Supérieur en Biochimie, Département de Biologie. Université d'Ouargla, pp : 4-5-6.

[24] M. REYNES, H. BOUABIDI, G. PIOMB, et M. RISTERUCCIA, 1994. Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région de Djérid en Tunisie. *Fruits*, 49, pp: 289-298.

[25] L. G. RYGG, 1953. Factors affecting the spoilage of dates at room temperature. *Annu, Rep, Date Growers inst.*, 30; pp : 10-14.

[26] S. OURIL, 2002. Contribution à l'étude de quelques caractéristiques morphologiques Et biochimique des fruits de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) dans la région de Sidi- Okba (Biskra). Mémoire d'Ingénieur en Agronomie. Université de Batna. 73 p.

[27] M. HADJARI, et M. KADI-HFIANI, 2005. La mise en œuvre de la fermentation De jus de datte. Etude cinétique et biochimique. Mémoire d'Ingénieur en Science Alimentaire, Mascara. pp : 21-22-23.

[28] M. Belguedj, 2002. Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies sud-Est Algériens. Ed. Dossier– Document - Débat, 289p.

[29] M ME AMELLAL, Thèse de doctorat . Aptitudes technologique de quelque variété de dattes : formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé université- Bomerdes 2007-2008.

[30] M. FRENOT, ET E. VERING ,1997. Biochimie des aliments diététiques des sujets Bien portant. 2eme Edition. Doin, Acquittai, 282 p.

[31] F. GHAZI, et M. TEFFHI, 2007. Mise en valeur et étude de l'utilité technologique De la fermentation de dattes «cas de la variété Hnira». Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Sciences alimentaire, Mascara, pp : 3-6-9-21.

[32] G. PAYRON, 2000. Cultiver le palmier dattier. Ed. CIRAD, Montpellier .pp : 9-34.

[33] P. Meunier. « Le palmier dattier ». Ed. Maisonneuve, Paris. (1973)

- [34] A. Touzi, 1997. Valorisation des produits et sous-produits de la datte par les procédés biotechnologiques. Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte"
- [35] M.D. Ould El Hadj, A.H. Sebihi et O. Siboukeur, (2001). Qualité hygiénique et caractéristique physico-chimique du vinaigre traditionnel de quelques variétés de dattes de la cuvette d'Ouargla. *Revue Energie Renouvelable : Production et Valorisation-Biomasse*. 87- 92p.
- [36] M. Gualtieri and S. Repacking, (1994). Date stones in broiler are feeding. In : *Technologie de la datte*. Ed .GRIDAO.Monpellier. 35 p.
- [37] F.Kaidi et A . Touzi . « Production et Valorisation – Biomasse » ; production de bioalcool des déchets de dattes. 75-78. (2001).
- [38] D. Fabienne. « *Génie Fermentaire* », Edition Doin Editeurs, pp. 226 - 229, Paris, (1991).
- [39] S.Acourene et al. << Caractérisation physicochimique des principaux cultivars de dattes de la région des Zibans >>. *Recherche agronomique* 9, 19-30.(1997)
- [40] Anonyme. « Official methods of analysis ». Ed.Washington D.C.1<sup>th</sup> Edition (1975).
- [41] J. Navarr, 1974. *Manuel d'œnologie* (2<sup>ème</sup> édition), Bailliere. Paris, 218 p
- [42] G. Linden, 1981. *Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires*. Vol. II: Principe des techniques d'analyse. (Ed) Collection Science et Technique Agroalimentaire. Paris, 434 p.
- [43] C. Audigie, J. Figiralla, F. Zonszain, 1980.- *Manuel d'analyses biochimiques*. Ed. Doin, Paris, 270 p.
- [44] Anonyme. « Protocole INRAA ».(2006).
- [45] Handbook, 1991-1992

# ANNEXES



## ANNEXE 1

### Préparation de liqueur de Fehling

Deux solutions aqueuses sont préparées et mélangées à part égale à la demande, pour former la liqueur de Fehling qui se conserve environ 18 mois.

#### Solution A :

45g de sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ )

1000 ml d'eau distillé (solution saturée)

#### Solution B :

200g de sel de Seignette (tartrate de sodium et de potassium  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )

150g d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ )

1000ml d'eau distillée

### Les oligoéléments

3.3 g de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

0.2g de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

0.1g de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

0.4g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

2.3g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

3.3g de  $(\text{NH}_4)_2 \text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

} 500ml d'eau distillé

0.01g de  $\text{H}_3\text{BO}_3$

## ANNEXE 2

### Courbe d'étalonnage 0.01% de glucose

Concentration de glucose en ( $\mu\text{g}$ )	0	10	80	120	160	200
DO à 490 nm	0	0.183	0.341	0.544	0.713	0.854

