

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, Environnement et Développement Durable

Intitulé du mémoire

**Bioconversion de la biomasse lignocellulosique pour
la production de Bioéthanol de deuxième génération
à partir des épluchures de l'espèce *Solanum
tuberosum* et de *Punica granatum***

Présenté par :

M. Djeddou Sohaib

M. Fkair Mohamed Ayoub

Encadré par :

Dr. Boutemak Khalida

Année universitaire 2016/2017

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué dans le laboratoire de recherche d'Analyses Fonctionnelles des Procédés Chimiques de l'Université SAAD DHALAB de Blida 1. Tout d'abord nous remercions DIEU le tous les puissants qui nous a donné le courage et l'ambition pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions gracieusement notre promotrice docteur M^{me} Khalida Boutemak « Maître de conférence B » pour sa disponibilité à toute épreuve, pour sa gentillesse et sa patience qui nous a encouragé en permanence pendant la réalisation de ce mémoire. Grâce à leur suggestion et leur suivi continu, nous avons pu apprendre ce qui est la chose la plus importante pour une initiation d'un chercheur : la méthodologie de la recherche scientifique. Elle a stimulé la discussion scientifique et elle nous a accompagnés dans la synthèse des résultats et dans la rédaction du document. Nous exprimons toutes nos gratitude.

Nos remerciments s'adressent plus particulièrement aux nos enseignants Professeurs M Omar Bouras, porteur de notre option de génie des procédés : Eau, Environnement et Développement Durable, M Ali Aouabed, M Abdelmalek Badis, M Mohamed Wahib Naceur, M Boualem Remini, M Menouer Boughedaoui et M Cheknane Omar ainsi que les autres enseignants pour leurs conseils précieuses durant les années d'étude.

Nos remerciments s'adressent aux membres de Jury d'avoir bien accepté d'évaluer ce travail, et nous profitons pour leur exprimer toute nos considérations.

Nos sincères remerciments s'adressent à l'ensemble des ingénieurs et techniciens des laboratoires de département de génie des procédés et spécialement pour les ingénieurs : Meriem, Naffisa, Rachid, Karima, Nawel, Taher et Zahira.

Enfin, nous dédions ce travail à nos mères et pères pour leurs soutiens que DIEU les garde en bonne santé. A nos frères et sœurs, nos amis(e) et nos camarades(e) ainsi que toute la promo d'EEDD.

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Liste des figures

Figure 1.1 : Principaux processus de la conversion de la biomasse

Figure 1.2 : Production mondiale de bioéthanol (2015)

Figure 1.3 : Source du bioéthanol de deuxième génération.

Figure 1.4 : Structure de la biomasse lignocellulosique

Figure 1.5 : Structure de la phase cristalline et amorphe de la cellulose

Figure 1.6 : Structure de la cellulose

Figure 1.7 : Structure de deux hémicelluloses (xylane et glucomannane)

Figure 1.8 : Structure de la lignine

Figure 1.9 : Schéma descriptive représente les équations de la déshydratation des sucres C5 en hydroxyméthylfurfural et des sucres C6 en furfural

Figure 1.10 : Schéma descriptive du prétraitement de la biomasse lignocellulosique

Figure 2.1 : Arbre de *Punica granatum*

Figure 2.2 : Structure de *Punica granatum*

Figure 2.3 : Structure de tubercule de *Solanum tuberosum*

Figure 3.1 : Schéma descriptive représente la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique en acide 3-amino 5-nitrosalicylique

Figure 3.2 : Schéma descriptive représente les différentes étapes de la production de bioéthanol des épluchures de la pomme de terre.

Figure 3.3 : Schéma descriptive représente les différentes étapes de la production de bioéthanol des épluchures de la grenade.

Figure 3.4 : Densimètre "METTLER TOLEDO 30PX"

Figure 4.1 : Cinétique de pH de *Solanum tuberosum*.

Figure 4.2 : Cinétique de pH de *Punica granatum*

Figure 4.3 : Cinétique des sucres totaux de *Solanum tuberosum*.

Figure 4.4 : Cinétique des sucres totaux de *Punica granatum*.

Figure 4.5 : Cinétique des sucres réducteurs de *Solanum tuberosum*.

Figure 4.6 : Cinétique des sucres réducteurs de *Punica granatum*.

Figure 4.7 : Courbe d'étalonnage des indices de réfraction.

Figure 4.8 : Chromatogramme de l'éthanol 96%.

Figure 4.9 : Chromatogramme de bioéthanol des épiluchures de la pomme de terre.

Figure 4.10 : Chromatogramme de bioéthanol des épiluchures de grenade.

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Propriétés physico-chimiques et thermiques du bioéthanol

Tableau 1.2 : Types de bioéthanol utilisés dans différents pays

Tableau 1.3 : Principales macromolécules des grandes cultures amyliacées

Tableau 1.4 : Prétraitements de la biomasse lignocellulosique

Tableau 2.1 : Composition chimique des épiluchures de *Punica granatum*

Tableau 2.2 : Composition lignocellulosique des épiluchures de *Punica granatum*

Tableau 2.3 : Production Algérienne de *Solanum tuberosum* 2011-2015

Tableau 2.4 : Variétés de *Solanum tuberosum* les plus cultivées

Tableau 2.5 : Composition chimique des épiluchures de *Solanum tuberosum* 1g/100g

Tableau 2.6 : Composition lignocellulosique des épiluchues de pomme de terre

Tableau 3.1 : Réactifs utilisés

Tableau 4.1 : Taux d'humidité

Tableau 4.2 : Taux de cendre

Tableau 4.3 : Taux de la cellulose et l'hémicellulose

Tableau 4.4 : Indice de réfraction de l'éthanol obtenu à partir des épluchures de *Solanum tuberosum*.

Tableau 4.5 : Indice de réfraction de l'éthanol obtenu à partir des épluchures de *Punica granatum*

Tableau 4.6 : Densité de bioéthanol

Tableau 4.7 : fractions massiques et molaires de bioéthanol des deux espèces.

Tableau 4.8 : Comparaison des différents travaux avec les épluchures de la pomme de terre.

LISTE DES ABREVIATIONS

CE : Communauté Européenne

C5 : sucre à 6 carbones

C6 : sucre à 5 carbones

DNSA : Acide 3,5-dinitrosalicylique

E5 : Ethanol à 5%

E10 : Ethanol à 10%

E85 : Ethanol à 85%

E95 : Ethanol à 95%

E100 : Ethanol à 100%

FID : Détecteur à Ionisation à Flamme

HFS : Hydrolyse et Fermentation Séparée

NF : Normes Françaises

OV : Vallée de l'Ohio

SFS : Saccharification et Fermentation Simultanée

UV : Ultra-Violet

WWI : World World Institute

RÉSUMÉ

ملخص

يتمحور عملنا حول إنتاج الإيثانول الحيوي من الجيل الثاني وهذا باستخدام مخلفات زراعية كمواد أولية تتمثل في قشرة البطاطا وقشرة الرمان كل على حدا. استخدمنا في عملنا هذا طريقة الفصل بين استخراج السيليلوز والهميسيلولوز من الكتلة والتخمير، بحيث أن المرحلة الأولى تمت بعد المعالجة الأولية بواسطة حمض الصبدر وكلوريك، ثم استخدام إنزيمات السكر السيلولاز وهميسيلولاز. في المرحلة الثالثة استعملنا خميرة الخباز الصناعية «سكروميسز سيريفيسياي» في عملية التخمير الجولي في وسط لاهوائي في درجة حرارة تعادل 30 درجة مئوية، درجة حموضة 4.7 وسرعة دوران تعادل 250 دورة في الدقيقة للحصول على الإيثانول. بعد عملية تقطير لكل خليط، حصلنا على إيثانول حيوي عالي التركيز بكميات متفاوتة، مع نقص شديد في كمية السكريات في الوسط المتخمر.

كلمات دلالية: الإيثانول الحيوي، قشرة البطاطا، قشرة الرمان، التخمير الجولي، سكروميسز سيريفيسياي

Résumé

Dans cette étude, la valorisation des déchets agricoles pour produire du bioéthanol de deuxième génération a été faite à partir des deux biomasses lignocellulosiques différentes : les épluchures de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) et de la grenade (*Punica granatum*). Chaque biomasse a été valorisée à part. Le procédé qui a été effectué dans cette étude est la saccharification et la fermentation séparée (SFS). Un prétraitement chimique par l'acide hydrochlorique (HCl) a été réalisé sur chaque biomasse afin de dépolymériser la structure lignocellulosique. Ainsi une saccharification a été réalisée sur chaque biomasse par l'utilisation des deux enzymes : la cellulase et l'hémicellulase, afin d'avoir des sucres fermentescibles. Après cette étape, l'hydrolysate a été fermenter en utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae* industrielle sous conditions anaérobiques (pH=4,7, T=30°C, et une vitesse d'agitation de 250 tr/min). La concentration de bioéthanol qui a été obtenue après 72 heures de fermentation est de 730 g/L pour la pomme de terre et de 776 g/L après 48 heures pour la grenade.

Mots clés : bioéthanol, biomasse lignocellulosique , *Solanum tuberosum*, *Punica granatum*, Saccharification, *Saccharomyces cerevisiae*

Abstract

In this study, the valorisation of agricultural waste to produce bioethanol fuel of second generation have been made from two different lignocellulosic biomasses: peelings of the potato (*Solanum tuberosum*) and pomegranate (*Punica granatum*). Each biomass was valued at hand. The process, which was carried out in this study, is the separated saccharification and fermentation (SSF). A chemical pretreatment by the acid hydrochloric (HCl) was carried out on each biomass in order to depolymerize the lignocellulosic structure. As well a, saccharification has been carried out on each biomass by the use of two enzymes: cellulase and hemicellulase, in order to have a fermentable sugars. After this stage, the hydrolsate was to ferment using industrial yeast *Saccharomyces cerevisiae* under anaerobic conditions (pH=4.7, T=30°C, 250 rpm). The concentration of bioethanol which was obtained after a 72 hours of fermentation is 730 g/L for the potato peels and 776 g/L after 48 hours of fermentation for pomegranate peels.

Keywords: bioethanol, lignocellulosic biomass, *Solanum tuberosum*, *Punica granatum*, Saccharification, *Saccharomyces cerevisiae*

TABLE DES MATIERES

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LE BIOETHANOL	3
I.1 LA NOTION DE BIOCARBURANT.....	3
I.3 LE BIOGAZ	3
I.4 LA BIOHUILE	4
I.5 LE BIOETHANOL	4
I.6 LES GENERATIONS DE BIOETHANOL.....	7
I.7 LA PRODUCTION DE BIOETHANOL DE DEUXIEME GENERATION.....	12

CHAPITRE II

PRESENTATION DE LA BIOMASSE ETUDIEE	16
II.1 Le Grenadier (<i>Punica granatum</i>).....	16
II.2 La Pomme De Terre (<i>Solanum tuberosum</i>)	18

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES	22
III.1 OBJECTIF	22
III.2 PREPARATION DE SUBSTRAT	22
III.3 REACTIFS.....	22
III.4 CARACTERISATION DE LA MATIERE PREMIERE.....	24
III.5 PRODUCTION DE BIOETHANOL.....	25
III.5.4.1 Mesure du pH.....	26
III.5.4.2 Mesure des sucres totaux par la méthode de Dubois	26
III.5.4.3 Mesure des sucres réducteurs par la méthode de Miller.....	27
III.5.5 Distillation fractionnelle de bioéthanol.....	28
III.5.6 Caractérisation du bioéthanol	31
III.5.6.1 Vérification de la pureté	31
III.5.6.2 Mesure de la densité	31
III.5.6.3 Analyse qualitative du bioéthanol par Chromatographie en Phase Gazeuse	31
III.5.6.4 Analyse quantitative du bioéthanol par densimètre	32

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSION.....	33
IV.1 CARACTERISATION DE LA MATIERE PREMIERE.....	33
IV.2 EVOLUTION DU POTENTIEL D'HYDROGENE, DES SUCRES TOTAUX ET DES SUCRES REDUCTEURS AU COURS DE LA FERMENTATION.....	34

IV.3 INDICE DE REFRACTION (VERIFICATION DE LA PURETE).....	36
IV.4 MESURE DE LA DENSITE.....	39
IV.5 MESURE DE LA FRACTION MASSIQUE ET VOLUMIQUE.....	40
IV.6 ANALYSE QUALITATIVE DU BIOETHANOL PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE	41
CONCLUSION GENERALE.....	43

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La limitation de la consommation de carburants issus de la pétrochimie est devenue l'un des problèmes majeurs de ce début 21^{ème} siècle. Leur utilisation en hausse constante, représente un facteur important notamment de la pollution de l'air et donc à des répercussions sur le réchauffement climatique et sur la santé humaine.

La demande d'énergie continue à accroître rapidement en raison de l'expansion de la population humaine, l'augmentation de l'activité agricole et industrielle, ainsi que le développement du secteur de transport. En raison de ça, il était obligatoirement de trouver de nouvelles sources d'énergie renouvelables.

En Algérie, un programme des énergies renouvelables a été lancé en Mars 2011 par le gouvernement, qui s'appuie sur la mise en valeurs des ressources inépuisables et leur utilisation afin de diversifier les sources d'énergie et préparer le pays pour demain.

Les biocarburants sont des énergies alternatives issues de la biomasse parmi les autres énergies renouvelables qui peuvent être en concurrence avec les hydrocarbures en raison de ses faibles émissions des gaz à effet de serre. Parmi lesquelles, le bioéthanol de la deuxième génération issus de déchets lignocellulosiques, qui ne sont pas utilisés dans l'alimentation humaine. Cette seconde génération exploite les polysaccharides composant la cellulose et les hémicelluloses de la biomasse, les extrayant en carbohydrates, et les fermentant sous forme d'éthanol.

L'objectif de ce travail est de produire de bioéthanol de la seconde génération à partir des deux déchets lignocellulosiques (épluchures de la pomme de terre et de la grenade).

Ce travail présente deux parties principales :

La première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle le premier chapitre présentera des généralités sur les biocarburants et sur le bioéthanol, ce chapitre exposera et décrira les différentes générations du bioéthanol et quelques procédés de production. Le second chapitre sera consacré aux deux biomasses utilisées, les épluchures de la pomme de terre et de la grenade.

➤ La seconde partie est une étude expérimentale consacrée à :

- La détermination du taux de la cellulose et l'hémicellulose dans les biomasses lignocellulosiques étudiées.
- La production du bioéthanol de deuxième génération
- La caractérisation qualitative et quantitative du bioéthanol produit ainsi que la détermination de sa pureté

A partir de l'interprétation des résultats expérimentaux, nous terminerons notre travail par une conclusion générale.

CHAPITRE I
GENERALITES SUR LE
BIOETHANOL

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LE BIOETHANOL

I.1 LA NOTION DE BIOCARBURANT

Le terme ‘‘biocarburant’’ est généralement référencié aux carburants combustibles liquides ou gazeux, produits à partir de la biomasse végétale ou animale par voie thermochimique et par voie biologique (figure 1.1). Le biocarburant est un produit non polluant, biodégradable, durable et sa matière première est renouvelable. Différentes catégories de biocarburants sont en phase de la recherche notamment le bioéthanol, le biodiesel, le biogaz et les bio-huiles.

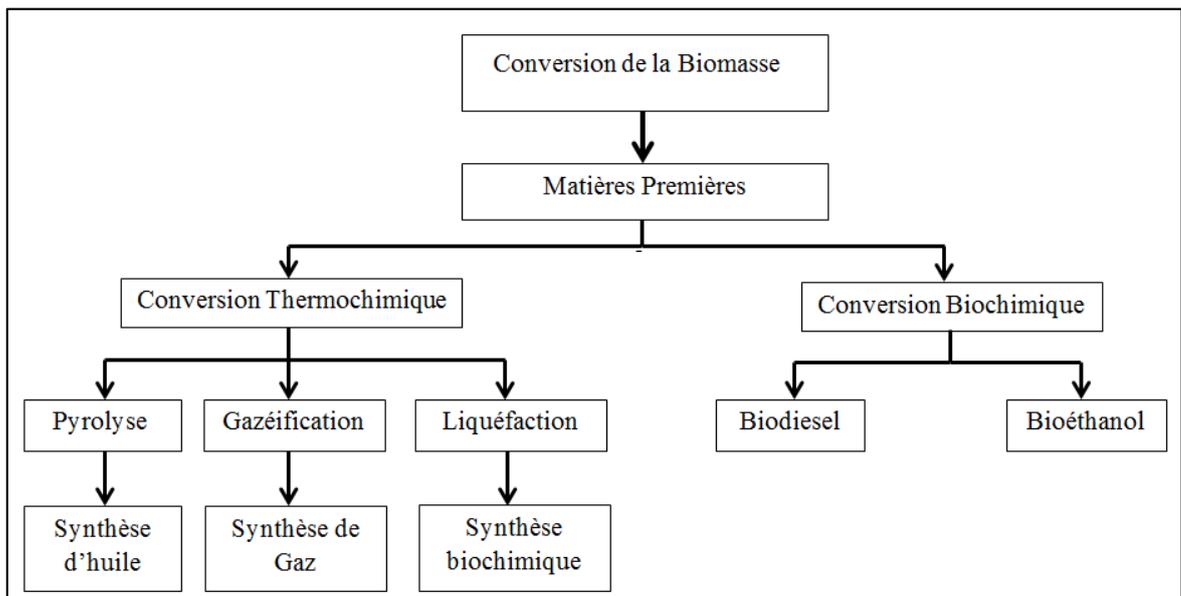


Figure 1.1 : Principaux processus de la conversion de la biomasse [1].

I.2 LE BIODISEL

Le biodiesel est un biocarburant liquide produit par transformation des huiles végétales, des graisses animales ou des huiles usées qui sont soumises à une réaction appelée transésterification. Dans cette réaction, la biomasse (triglycérides) est réagie en présence d'un catalyseur avec un alcool (éthanol ou méthanol) pour donner de l'ester éthylique ou méthylique qui est le biodiesel [2].

I.3 LE BIOGAZ

Le biogaz ou le méthane est un biocarburant qui peut être produit à partir d'une fermentation anaérobie des différentes biomasses ou des déchets biodégradables en absence de l'oxygène [3].

I.4 LA BIOHUILE

Une bio-huile représente un combustible liquide produite à partir des matières premières renouvelables [4]. Elle est constituée d'un mélange complexe de composés oxygénés de différentes tailles organiques et inorganiques comme par exemple : les hydroxy-aldéhydes, les cétones-hydroxy, les sucres, les acides carboxyliques et les composés phénoliques. Les composés inorganiques peuvent être présentés dans l'huile biologique en associant avec les acides organiques et liés à des divers composés enzymatiques. Cette huile est obtenue à partir d'une réaction de pyrolyse [1].

I.5 LE BIOETHANOL

Le bioéthanol est un alcool obtenu par une fermentation microbienne. C'est une énergie renouvelable alternative qui peut remplacer les énergies fossiles comme l'essence, le diesel, et le gaz naturel dans le secteur de transport. Selon la directive Européenne 2003/30/CE [5], le bioéthanol est un produit dérivé à partir de la biomasse ou la partie biodégradable des déchets, il est destiné à être utilisé comme biocarburant. Le tableau ci-dessus représente les principales propriétés physico-chimiques et thermiques du bioéthanol [6].

Tableau 1.1 : Propriétés physico-chimiques et thermiques du bioéthanol [6].

Propriétés physiques	
Masse volumique (g/cm ³)	0,79
Tension de vapeur (38°C) (mmHg)	50
Température d'ébullition (°C)	78,5
Constante diélectrique	24,3
Solubilité	Miscible
Propriétés chimiques	
Formule chimique	C ₂ H ₅ OH
Masse moléculaire (g/mol)	46,1
Teneur en carbone (%)	52,1
Teneur en hydrogène (%)	13,1
Teneur en oxygène (%)	34,7
Propriétés thermiques	
Chaleur spécifique (Kcal/Kg °C)	0,60
Point de fusion (°C)	-115
Température d'inflammation (°C)	35
Indice d'octane	99

Le bioéthanol peut être obtenu par différentes glucides notamment les monosaccharides, les disaccharides et les polysaccharides. Cela dépend de la source de production qui est classée par le terme "génération". Il existe trois principales générations : la première génération

repose sur les plantes amylacées. La seconde génération représente la biomasse lignocellulosique dérivée des résidus biodégradables. La troisième génération est la génération des cultures des algues et des microalgues [6].

I.5.1 Les types de bioéthanol [6]

Ils existent différents types de bioéthanol destinés au secteur de transport. Ce sont des mélanges composés du bioéthanol et d'essence présentés en différentes teneurs.

I.5.1.1 Le bioéthanol E5

C'est un mélange contenant 5% de bioéthanol et 95% d'essence. Il est destiné aux moteurs à essences classiques. Le bioéthanol E5 est généralement utilisé dans les pays européens comme l'Allemagne, la Suède, le Royaume-Uni et la Pologne.

I.5.1.2 Le bioéthanol E10

C'est un mélange contenant 10% de bioéthanol et 90% d'essence appelé 'gasohol'. Actuellement, tous les fabricants de voitures ont adoptés l'utilisation de mélange de bioéthanol de 10% ou moins pour l'ensemble de leurs véhicules. Il peut être utilisé dans les véhicules à essences sans modification des moteurs.

I.5.1.3 Le bioéthanol E85

Il est largement utilisé dans l'Europe et les Etats-Unis. Son inconvénient repose sur que son utilisation est limitée juste dans les moteurs Flex-fuel.

I.5.1.4 Le bioéthanol E95

Il ne contient que 5% d'essence et il est utilisé dans certains moteurs diesel où une forte compression est utilisée pour enflammer le carburant.

I.5.1.5 Le bioéthanol E100

Il représente le bioéthanol pur, largement utilisé au Brésil et en Argentine. A des températures inférieures à 15°C, le fonctionnement entraîne des problèmes pour le démarrage des moteurs, ce qui nécessite d'ajouter un autre réservoir d'essence pour augmenter le contenu d'essence momentanément pour permettre le démarrage du moteur. Une fois démarré, le moteur est remis au bioéthanol pur.

Le tableau suivant présente les types de bioéthanol utilisés par les principaux pays producteurs en monde :

Tableau 1.2 : Types de bioéthanol utilisés dans différents pays [3].

Pays	Type de bioéthanol
États-Unis	E10
Brésil	E25-E70-E75-E85-E100
Europe	E5-E85

I.5.2 La production mondiale du bioéthanol

Plusieurs pays ont introduit ou mettant en place des programmes pour le bioéthanol. Conformément à l'appel de demande, le Brésil et les États-Unis sont les principaux acteurs de l'industrie représentent 87% de la production mondiale de biocarburants. En Europe, les principaux producteurs de bioéthanol sont l'Allemagne, la France, l'Espagne, la Suède et la Pologne. En comparant avec le Brésil et les États-Unis, l'éthanol de l'Union Européenne est encore très modeste. Ces deux pays sont maintenant en concurrence pour le titre de plus grand producteur mondial. Les États-Unis ont la croissance la plus rapide dans le monde et le plus grand marché de bioéthanol. Le Brésil a été pendant des décennies le principal producteur et consommateur mondial de bioéthanol, mais il a été dépassé par les États-Unis en 2006. La Chine est déjà le troisième producteur avec une capacité de production de 2,8 milliards litres en 2015. La figure 1.2 représente les cinq premiers producteurs mondiaux de bioéthanol durant l'année 2015 [7] [8].

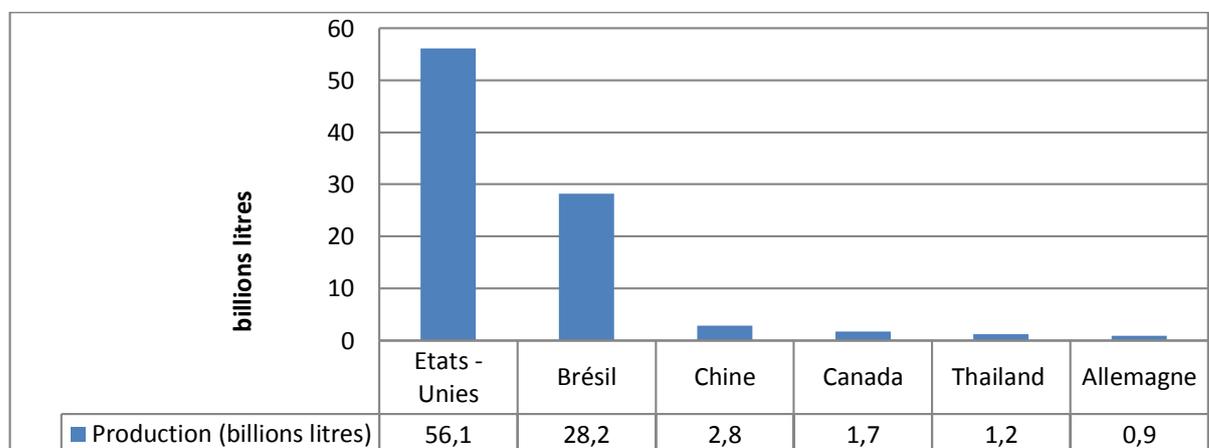


Figure 1.2 : Production mondiale de bioéthanol (2015) [7].

I.6 LES GENERATIONS DE BIOETHANOL

I.6.1 La première génération

La production du bioéthanol de première génération repose sur des biomasses de plantes ‘‘phytomasses’’, sources des êtres vivants [3]. Elle est composée de plantes saccharifères, et de plantes amylacées. Les matières premières à base de saccharose sont principalement dérivées à partir des cannes à sucres et des betteraves, tandis que les cultures de céréales et les plantes amidonnées sont produites à base d’amidon.

I.6.1.1 Les plantes saccharifères

Deux plantes sont valorisées : la canne à sucre et la betterave. Ces deux cultures ont une teneur importante en sucres et plus précisément le saccharose. Pour la canne à sucre, le saccharose est situé en grandes teneurs dans leurs tiges, tandis que dans la betterave on le retrouve beaucoup plus dans les racines [9].

I.6.1.2 Les plantes amylacées

I.6.1.2.1 Les céréales

Ces cultures sont riches en amidon et en alpha-polysaccharides qui comprennent les manomères de D-glucose sous deux formes : l’amylose et l’amylopectine. Parmi lesquelles nous avons : le blé, l’orge, le maïs, le manioc et le sorgho. Ils ont été utilisés comme matières premières pour la production de bioéthanol parce qu’ils ont une forte teneur en amidon. Le rendement de bioéthanol à partir de l’orge est de 1000 l /ha d’après World Watch Institute (WWI) [10]-[13].

I.6.1.2.2 Les plantes amidonnées

Elle repose globalement sur la pomme de terre qui est aussi riche en amidon, et qui est disponible dans toute la période de l’année. Le tableau 1.3 exprime la composition chimique des différentes cultures amylacées.

Tableau 1.3 : Principales macromolécules des grandes cultures amylacées [3].

Constituant %	Maïs	Blé	Orge	Sorgho	Manioc	Pomme de Terre
Amidon	65-72	57-70	52-64	55-65	65-82	14-24
Sucre	2,2	-	-	-	0,25	1,5
Protéines	9-12	12-14	10-11	10-15	2-3	0,6-3,5
Lipides	4,5	3	2,5-3	2-3	0,8	0,1

I.6.1.3 Les avantages et les limites de la première génération

La production de bioéthanol de première génération a donnée des avantages qui reposent principalement sur : le coût qui est rentable, des émissions faibles de CO₂ dans l'atmosphère, et aussi d'avoir une source d'énergie en dehors des hydrocarbures. Malgré ces avantages, cette génération présente un effet néfaste sur l'environnement, un effet négatif sur la sécurité alimentaire et aussi la perte de la biodiversité, ce qui a obligé les chercheurs de trouver une nouvelle alternative qui n'engendre pas ces problèmes [14].

I.6.2 La deuxième génération

Puisque la production du bioéthanol de première génération ne remplacera jamais les besoins pétroliers. Une nouvelle source a été mise en œuvre appelée la deuxième génération. Elle repose sur la biomasse lignocellulosique (cellulose, hémicellulose et lignine) comme matière première. Principalement la biomasse lignocellulosique comprend les déchets provenant de l'agriculture (pailles, tiges, feuilles, pailles de maïs et blé, bagasse et pomme de terre...), des forêts (les copeaux de bois, sciure, sylviculture...), les résidus générés par la transformation des aliments, les vieux papiers, les déchets solides municipaux, et aussi les boues des stations d'épuration des eaux usées. La figure suivante représente la source et la matière première du bioéthanol.

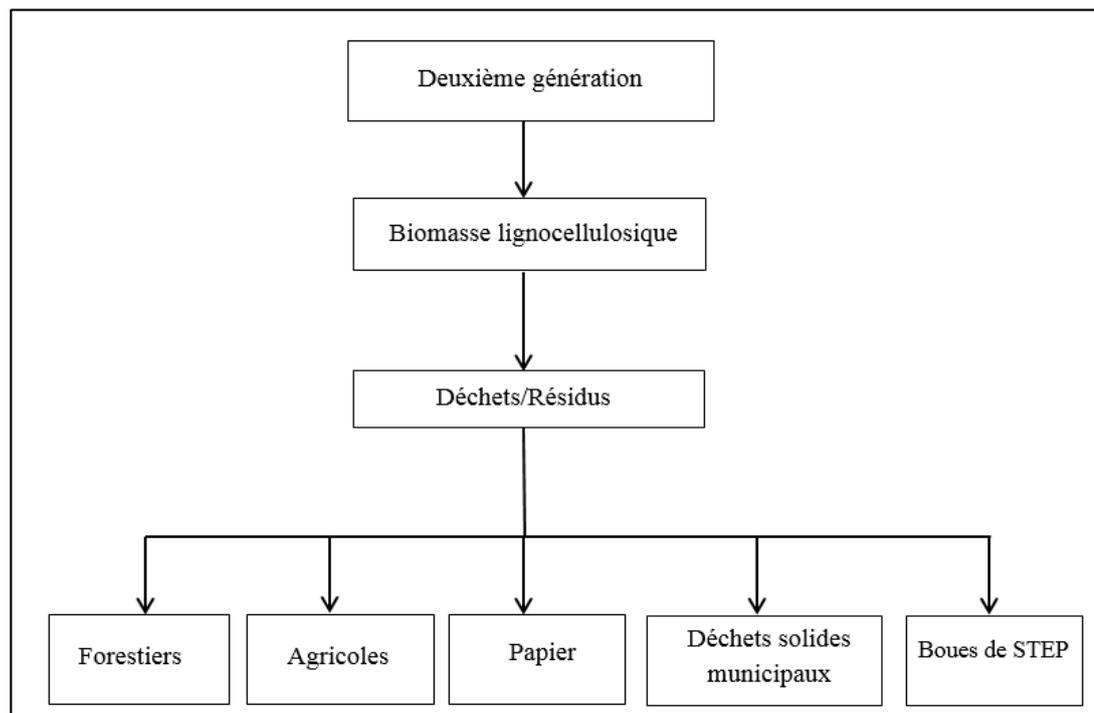


Figure 1.3 : Source du bioéthanol de deuxième génération.

I.6.2.1 La biomasse lignocellulosique

La biomasse lignocellulosique est composée de structures polymériques de la cellulose, l'hémicellulose, la lignine, d'autres composés organiques et des sels inorganiques. La figure ci-dessus représente la structure et la composition de la biomasse lignocellulosique.

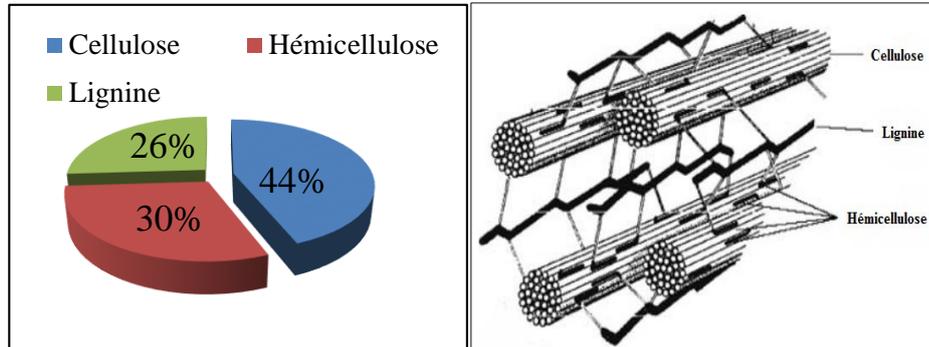


Figure 1.4 : Structure de la biomasse lignocellulosique [15].

I.6.2.1.1 La cellulose

La cellulose est le composant le plus abondant sur terre. C'est un polymère de molécules de glucose insoluble dans l'eau, dont la longueur de la chaîne varie entre 100 et 14 000 unités. Ces glucoses sont reliés entre eux par une liaison glucosidique $\beta(1-4)$ [15] [16]. Ce polysaccharide linéaire a une masse moléculaire de 1 à $2 \cdot 10^6$ g/mol [17]. Les longues chaînes linéaires de la cellulose sont reliées entre eux par des liaisons d'hydrogène. Il est composé par deux formes solides : cristalline et amorphe, la cellulose cristalline constitue la partie majeure de la cellulose, tandis qu'une petite teneur de cellulose non organisée est sous forme de chaîne de cellulose amorphe. Cette dernière partie est la plus susceptible à une dégradation enzymatique, par contre la phase cristalline est très serrés, ce qui est difficile pour les ions d'hydrogène et l'eau qui est nécessaire pour l'hydrolyse pour atteindre les liaisons glucosidiques.

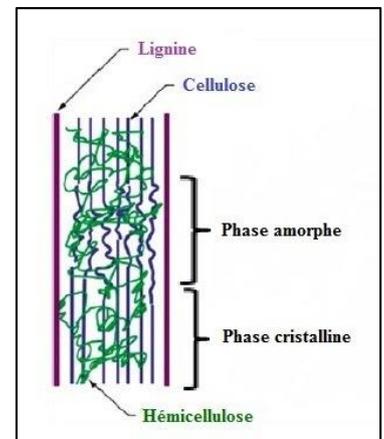


Figure 1.5 : Structure de la phase cristalline et amorphe de la cellulose [19].

C'est pour cela que l'hydrolyse acide est le procédé clé pour la zone cristalline [15] [16].

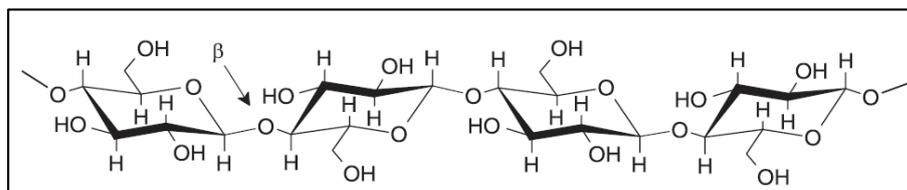


Figure 1.6 : Structure de la cellulose [15].

I.6.2.1.2 Les hémicelluloses

L'hémicellulose est le deuxième polymère abondant, il contient 20 à 50% de la biomasse lignocellulosique. Il possède de branches avec des chaînes latérales courtes composées de différents types de sucres. Il est constitué d'hexoses (glucose, mannose et galactose), pentoses (xylose, rhamnose, et arabinose), et l'acide uronique. Par rapport à la cellulose, l'hémicellulose a une masse moléculaire faible. L'épine dorsale de l'hémicellulose est soit un homopolymère ou un hétéropolymère avec des courtes branches liées par des liaisons $\beta(1-4)$ glucosidique et parfois $\beta(1-3)$ glucosidique [15] [16] [18].

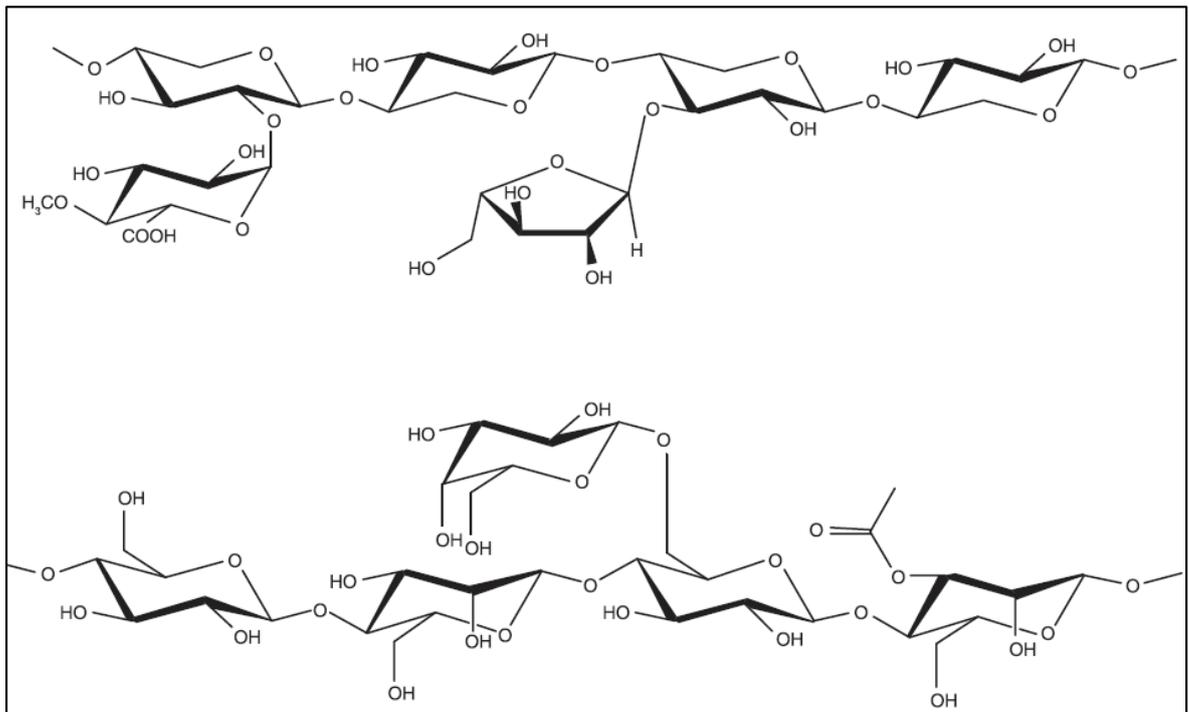


Figure 1.7 : Structure de deux hémicelluloses (xylane et glucomannane) [15].

II.6.2.1.3 La lignine

La lignine est une structure phénolique d'unités aromatiques amorphes et irrégulières. Elle est présentée dans les parois végétales et confère une résistance rigide et imperméable à l'attaque microbienne [15] [16].

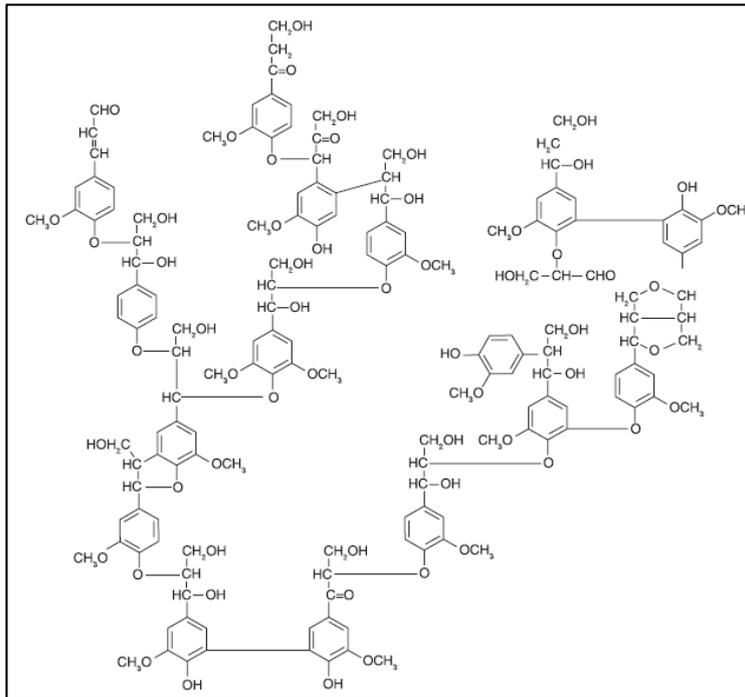


Figure 1.8 : Structure de la lignine [15].

L'un des problèmes chimiques avec la lignine produit dans un acide dilué ou un processus enzymatique est qu'elle est très condensée, ce qui réduit le nombre d'hydroxyle réactif [16].

II.6.2.2 Les avantages et les limites de la deuxième génération

L'avantage principale de cette génération repose sur le coût de la matière première et la valorisation des déchets organiques, mais cela engendre aussi des problèmes environnementales sur certaines matières premières comme les déchets forestiers et agricoles qui sont parfois une alimentation pour l'animal, ce qui perturbe indirectement la chaîne alimentaire [14].

II.6.3 La troisième génération

Il existe une troisième génération dans la production de bioéthanol qui repose principalement sur les algues et les micro-algues comme ressource. Elle est considérée comme une source d'énergie viable, alternative et durable, qui surmonte les problèmes présentés par rapport aux deux premières générations de bioéthanol. Ces combustibles sont également connus comme des biocarburants avancés ou des hydrocarbures verts. Ils sont également reconnus comme excellents matières premières surtout en raison de leurs niveaux d'huiles ou des lipides, glucides, protéines ou matières. En comparaison avec la première et la deuxième génération, les cellules microbiennes des algues peuvent être obtenues avec des rendements élevés par des bioréacteurs sans avoir besoin de terres de cultures et aussi l'utilisation des engrais, de l'eau et des pesticides [20] [21]. Ces microalgues forment une

catégorie d'organisme qui est susceptible d'être une matière première pour la production de bioéthanol de troisième génération, en raison de leur teneur élevée en glucides, un taux fort de croissance et l'absence de la lignine. *Chlorococcum, Chlorella, Chlamydomonas, Scenedesmus, et Tetraselmis* sont des bons microalgues pour une production de bioéthanol. Le rendement varie en fonction de l'hydrolyse et le processus de la fermentation utilisés. Certains groupes d'algues produisent de l'amidon comme une source d'énergie. Cependant, la cellulose représente le composant principal des parois cellulaires des microalgues [22].

I.7 LA PRODUCTION DE BIOETHANOL DE DEUXIEME GENERATION

La production de bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique est basée sur l'application des opérations successives afin d'obtenir à la fin le bioéthanol, et qui sont :

- Préparation de substrat.
- Prétraitement.
- Hydrolyse et saccharification.
- fermentation.
- Distillation.

I.7.2 Préparation de substrat

La biomasse (ou la matière première) doit passer par une série d'opérations qui repose sur : le lavage, le séchage à l'abri de la lumière et le broyage à des grains de moyenne taille ou fines. Elle va être conditionnée par la suite sous incubation à une température ambiante (25°C) jusqu'à son utilisation.

I.7.3 Prétraitement

Il peut être fait par différentes méthodes qui sont principalement : physiques, et/ou chimiques et/ou biologiques [8]. Il permet de séparer et dégrader les différents composés de la biomasse lignocellulosique en séparant la cellulose et l'hémicellulose de la lignine pour faciliter aux enzymes de la dégrader en sucres simples. Le prétraitement à la vapeur, l'hydrolyse acide concentrée, l'hydrolyse acide diluée sont les prétraitements les plus utilisés pour la biomasse lignocellulosique. D'autres prétraitements existent comme le traitement alcalin, le traitement assisté aux ondes ultrasons, le traitement assisté aux ondes microondes et le traitement par les solvants organiques [8].

I.7.3.1 Explosion à la vapeur

La matière lignocellulosique est prétraitée par la vapeur d'eau dans une température varie entre 160 et 240°C, sous une pression varie entre 0,4 et 0,8 MPa pour une durée de quelques minutes. Une dépressurisation au cours de ce processus est indispensable. Ce procédé permet de séparer la cellulose et l'hémicellulose de la lignine [15] [23] [24].

I.7.3.2 Hydrolyse acide concentrée

Le processus de l'hydrolyse acide concentrée est basé sur l'hydrolyse des matières premières lignocellulosiques par un acide (généralement l'acide chlorhydrique et l'acide sulfurique) à des faibles températures (40-100°C) afin de dégrader la cellulose et l'hémicellulose. L'inconvénient principal de l'hydrolyse acide concentrée est la corrosion des équipements industriels, ainsi que la formation des composés phénoliques, le furfural et l'hydroxyméthylfurfural, ce qui est nécessaire de corriger le pH après cette étape [1].

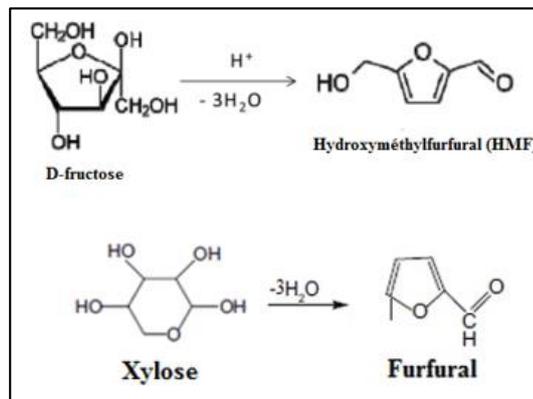


Figure 1.9 : Schéma descriptive représente les équations de la déshydratation des sucres C5 en hydroxyméthylfurfural et des sucres C6 en furfural [25] [26].

I.7.3.3 Hydrolyse acide diluée

Cette étape est utilisée par un acide dilué (0,2-2,5%) dans un milieu où la température varie entre 120-220°C. L'acide sulfurique est le plus utilisé dans cette étape, il permet de dégrader l'hémicellulose et donner à la fin la xylose et des autres sucres [23].

Tableau 1.4 : Prétraitements de la biomasse lignocellulosique

Prétraitements	Procédure	T (°C)	P (MPa)	t (min)	Références
Explosion à la vapeur	Vapeur d'eau	160-240	0,4-4,8	5-30	Agbor et al.2011
Hydrolyse acide concentrée	HCl/ H ₂ SO ₄ (30-70%)	40-100	-	120-360	Ramakrishnan Anish and Mala Rao. 2009
Hydrolyse acide diluée	HCl/ H ₂ SO ₄ (0,2-2,5%)	120-210	-	30-90	Bensah and Mendah. 2013

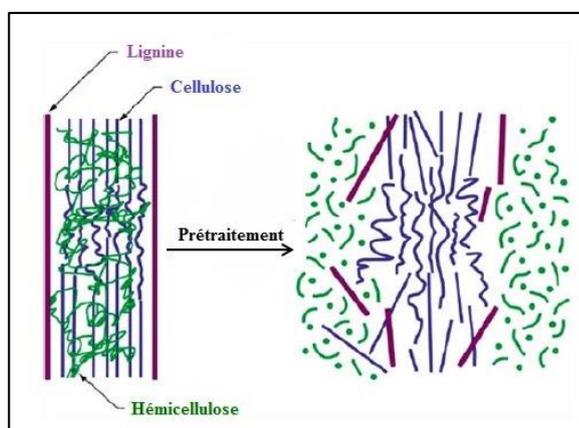


Figure 1.10 : Schéma descriptive du prétraitement de la biomasse lignocellulosique [27].

I.7.4 Hydrolyse enzymatique et saccharification

Le procédé de l'hydrolyse enzymatique repose sur l'hydrolyse de la cellulose et l'hémicellulose en sucres simples soit par des enzymes et/ou par des champignons. La cellulose est décomposée par l'enzyme cellulase en glucose et en cellobiose, tandis que l'hémicellulose est convertie en xylose et d'autres sucres par l'enzyme hémicellulase.

I.7.5 Fermentation

Les conditions de cette étape sont reliées avec le procédé de l'hydrolyse enzymatique, cela dépend de la méthode utilisée. Différentes microorganismes sont utilisés dans la fermentation des hexoses et des pentoses. Parmi lesquelles : la levure *Saccharomyces cerevisiae*, la bactérie *Escherichia coli* et aussi la bactérie *Zymomonas mobilis* [15].

I.7.6 Distillation

Dans cette étape, le bioéthanol est séparé de l'eau et des autres composés par une distillation. Afin d'obtenir une concentration élevée en bioéthanol, une deuxième distillation est indispensable. D'autres procédés sont notés comme la déshydratation présentée par le tamis moléculaire [8].

CHAPITRE II
PRESENTATION DE LA
BIOMASSE ETUDIEE

CHAPITRE II

PRESENTATION DE LA BIOMASSE ETUDIEE

II.1 Le Grenadier (*Punica granatum*)

Le grenadier est un arbre à feuilles caduques, luisantes, étroites et entières, de 3 à 7 cm de long et de 2 cm de large, d'origine d'Asie. Il appartient à la famille *Punicacées* du genre *Punica*. Sa vie peut atteindre les 200 ans, mais la production de fruit est dans les 20 premières années [28]. Il est cultivé dans les pays du nord Africains, le sud d'Espagne, l'Amérique du nord au sein du Californie et au Florida (États-Unis) et en Asie dans l'Iran et l'Inde [29]. En Algérie, sa culture est située dans différentes régions du pays, notamment M'sila, Tlemcen, Djelfa, Biskra et Batna. Plusieurs variétés sont cultivées, à titre d'exemple : " Lhamraoui", "Snin Laàloudj", "Tounsi", " L'khadraoui" et "Kabylie" [30].

La classification botanique de grenadier est la suivante :

Règne : *Végétale*

Classe : *Dicotyledones*

Sous classe : *Gamopétales*

Ordre : *Myrtiflorales*

Famille : *Punicacées*

Genre : *Punica*

Espèce : *Punica granatum*



Figure 2.1 : Arbre de *Punica granatum* [29].

II.1.1 Les Fruits de *Punica granatum*

La grenade est le fruit du grenadier, c'est une baie, dont la taille varie entre celle de l'orange et le pamplemousse de 7 à 12 cm de diamètre, de forme hexagonale arrondie. Elle contient 600 graines pulpeuses en moyennes [28]. Son poids peut varier de 200 g à 1000 g parfois jusqu'à 1800 g. L'intérieur du fruit est divisé par des membranes fines non comestibles en un certain nombre de cellules. Ces cellules sont pleines d'arilles juteux [29]. Elle mûrit environ 4 à 7 mois après la floraison [29].

II.1.2 Les épluchures de *Punica granatum*

Les épluchures de grenade sont le couvert de fruit, ils ont une forme rigide de couleurs jaunes jusqu'au rouges foncés, ils constituent 50 % de la totalité de poids de cet fruit. Les industries transforment ces épluchures en jus, confiture et même en vin [31].

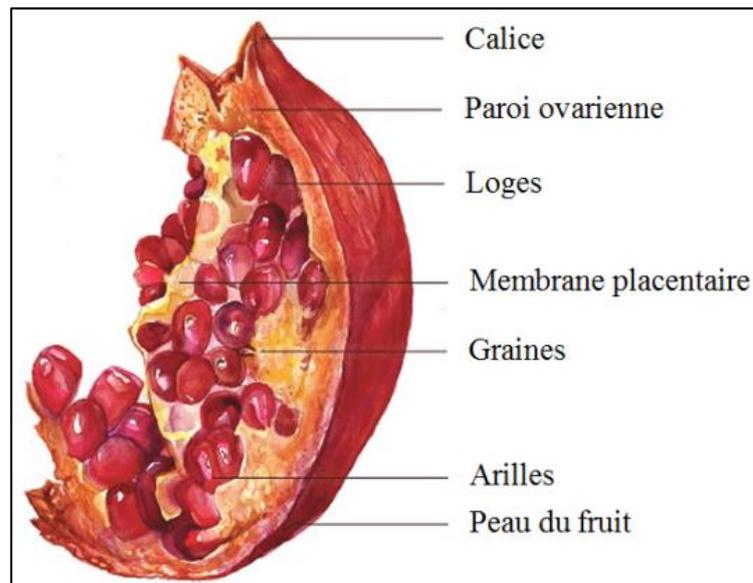


Figure 2.2 : Structure de *Punica granatum* [32].

II.1.3 La composition chimique des épluchures de *Punica granatum*

La composition chimique des épluchures de grenade est constituée des polyphénols, des tanins, de l'acide ellagique et l'acide gallique ainsi que la matière lignocellulosique [33]. Les tableaux suivant représentent la composition chimique ainsi que la composition lignocellulosique des épluchures de *Punica granatum* [34] [35].

Tableau 2.1 : Composition chimique des épiluchures de *Punica granatum* [36].

Composition des épiluchures de <i>Punica granatum</i> (poudre) (g/100g)	
Protéines	1,54
Glucose	27,94
Fructose	32,72
Sucre totaux	81,62
Phénol totaux	15,06
Acide éllagique (C ₁₄ H ₆ O ₈)	2,89

Tableau 2.2 : Composition lignocellulosique des épiluchures de *Punica granatum*

	Composition lignocellulosique (g/100g)		
	Cellulose [35]	Hémicellulose et pectine [34]	Lignine [35]
Épiluchures de <i>Punica granatum</i> (poudre) (g)	22,71	8,1	26,29

II.2 La Pomme De Terre (*Solanum tuberosum*)

La pomme de terre se situe au 4^{ème} rang de l'ensemble des cultures vivrières dans le monde derrière le maïs, le blé et le riz [37]. Elle est la première culture non céréalière au monde d'origine de l'Amérique du sud. C'est une plante vivace de la famille *Solanacées* de genre *Solanum tuberosum* pouvant atteindre un mètre de hauteur. La pomme de terre est riche en amidon et en oligo-éléments comme le potassium, le phosphore, le fer et le magnésium. Beaucoup de variétés sont cultivées en Algérie. A titre d'exemple, la *spunta*, *fabula*, *nicola*, *diamont* et *désirée*,... dans les régions littorales, sublittorales, atlas telliens et les hauts plateaux [38]. Bien que la pomme de terre est destinée à la consommation alimentaire, mais ses déchets sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique, le textile, par l'industrie papetière [39].

Selon Arthur Cronquist, la classification botanique de la pomme de terre est la suivante :

Règne : *Plantae*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Asteridae*

Ordre : *Solanales*

Famille : *Solanaceae*

Genre : *Solanum*

Espèce : *Solanum tuberosum*

II.2.2 Composition chimique du tubercule

Le tubercule est constitué, majoritairement d'une teneur de 75% d'eau, le reste est formé par la matière sèche : 20% amidon , 2,5% protéines, 1,8% fibres, 0,15% acides gras et 0,55% (sucres, acide aminés, vitamines et sels minéraux) [40].

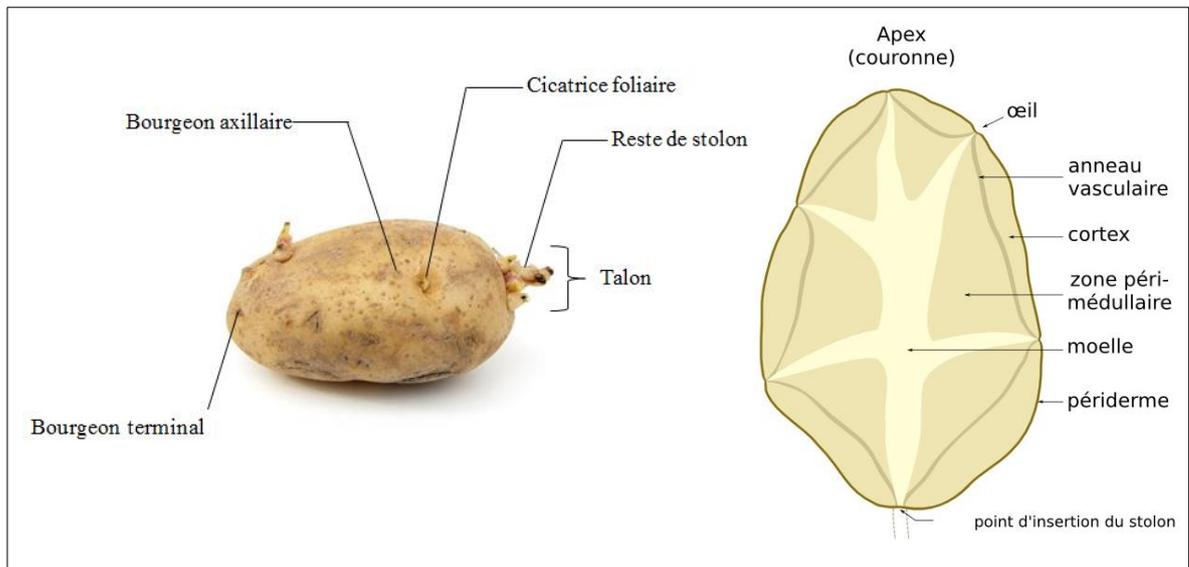


Figure 2.3 : Structure de tubercule de *Solanum tuberosum* [37] [41].

II.2.3 Production de *Solanum tuberosum* en Algérie

Elle est majoritairement cultivée dans les régions : littoral, sublittoral, atlas tellien et les hautes plaines [38].

- Primeur (plantation octobre-novembre) dans : Boumerdes, Tipaza, Skikda, Alger, Mostaganem et Tlemcen.

- Saisonnière (plantation janvier-mars) dans : Ain-defla, Mascara, Mila, Souk-ahras, Boumerdes, Mostaganem, Sétif, Tizi-ouzou, Tiaret, Tlemcen, Batna, Chlef, Bouira et El-oued.
- Arrière-saison (plantation juillet-août) dans : Ain-defla, Mascara, Guelma, Chlef, El oued, Tlemcen, Mostaganem et Djelfa.

Le tableau suivant exprime la production de *Solanum tuberosum* en Algérie dans les cinq dernières années [42].

Tableau 2.3 : Production Algérienne de *Solanum tuberosum* 2011-2015.

Année	2011	2012	2013	2014	2015
Production de pomme de terre (tonnes)	3 800 000	4 300 000	4 900 000	4 600 000	4 500 000

II.2.4 Variétés les plus cultivées en Algérie

Cent vingt variétés sont classées au catalogue Algérien des espèces et variétés cultivées. Le tableau suivant exprime les variétés cultivées selon leurs couleurs [38].

Tableau 2.4: Variétés de *Solanum tuberosum* les plus cultivées.

Variétés blanches	Variétés rouges
<i>Spunta</i>	<i>Bartina</i>
<i>Fabula</i>	<i>Désirée</i>
<i>Nicola</i>	<i>Kondor</i>
<i>Diamant</i>	
<i>Timate</i>	
<i>Atlas</i>	

II.2.5 Composition chimique des épluchures de *Solanum tuberosum*

L'eau est le constituant majeur des épluchures de *Solanum tuberosum* avec une teneur de 83,3%. Elles contiennent des quantités suffisantes de l'amidon, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (tableau 2.8).

Tableau 2.5 : Composition chimique des épluchures de *Solanum tuberosum* 1g/100g [44].

Composantes (poudre)	Teneur minimale et maximale %
Eau	83,3-85,1
Protéines	1,2-2,3
Total lipides	0,1-0,4
Total carbohydrates	8,7-12,4
Amidon	7,8
Total fibres	2,5
Cendres	0,9-1,6

Tableau 2.6 : Composition lignocellulosique des épluchures de pomme de terre [45].

Matière lignocellulosique	Teneur %
Cellulose	55,25
Hémicellulose	11,71
Lignine	14,24
Reste (humidité, cendres)	18,8

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

III.1 OBJECTIF

Ce présent travail a pour objectif de valoriser les déchets issus d'une biomasse lignocellulosique, en l'occurrence les épluchures des pommes de terre et ceux des grenades dans le but de produire de bioéthanol de deuxième génération.

III.2 PREPARATION DE SUBSTRAT

La grenade et la pomme de terre ont été obtenues respectivement à partir d'un marché local et d'un restaurant local. La biomasse étudiée des deux déchets a été séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière, ensuite elle a été broyée jusqu'à l'obtention des graines de tailles moyennes à fines, puis l'échantillon a été stocké dans des sacs noirs en milieu sec jusqu'à l'utilisation.

III.3 REACTIFS

Les réactifs utilisés dans les différentes étapes de la production de bioéthanol sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 3.1 : Réactifs utilisés

Réactifs	Origine
HCl (36,5-38%)	Sigma Aldrich, France
NaOH	Panreac, Espagne
H ₂ SO ₄ (95-97%)	Sigma Aldrich, France
Cellulase	Sigma Aldrich, France
Hémicellulase	Sigma Aldrich, France
Levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Rayen Food Industries, Tunisie
Extrait de levure	Biochem, France
Extrait de Malt	Biochem, France
MgSO ₄ , 7H ₂ O	Biochem, France
(NH ₄) ₂ SO ₄	Prolabo, USA
KH ₂ PO ₄	Biochem, France
CaCl ₂	Sigma Aldrich, France
FeSO ₄ , 7H ₂ O	Sigma Aldrich, France
D(+) glucose	-
Acide 3,5-dinitrosalicylique	-
Tartrate de sodium et de potassium	Panreac, Espagne
Ethanol 100%	Panreac, Espagne
Ethanol 96%	Panreac, Espagne
Acétone	-
Acide acétique	Sigma Aldrich, France

III.4 CARACTERISATION DE LA MATIERE PREMIERE

III.4.1 Taux d'humidité

Il représente le pourcentage en poids de l'eau contenue dans une biomasse solide frais, stockées à l'abri de la lumière. Il a été déterminé selon la norme (NF M 03-002) [56].

Mode opératoire

Une masse de 5 g de déchet a été introduite dans un verre de montre (m_0), l'échantillon a été placé ensuite dans une étuve réglée à 105 °C pendant 24 heures. Après 24 heures de séchage, la masse obtenue a été pesée (m_1). Le taux d'humidité est donné par la relation suivante :

$$H\% = \frac{m_0 - m_1}{m_0} * 100 \quad (\text{Eq1})$$

III.4.2 Taux de cendre

Le taux de cendre a été déterminé selon la norme (NF U 44-160) [56]. Il permet de connaître la part des matières organiques qui rentre dans la composition des épilucheurs de la pomme de terre et la grenade par rapport à la matière sèche. Cette matière organique ne fait pas partie du matériel lignocellulosique.

Mode opératoire

5 g d'épluchures sont séchés dans l'étuve pendant 12 heures puis placé dans un creuset en céramique. Ce creuset est mis par la suite dans un four réglé à 600°C pendant 45 min jusqu'à l'obtention d'une couleur grise claire au blanchâtre. Une fois la carbonisation est terminée, le creuset est ensuite retiré du four, refroidi à l'air libre puis pesé. Le taux de cendre est calculé par la formule suivante :

$$C\% = \frac{P_0 - P_1}{P_0} * 100 \quad (\text{Eq2})$$

Avec :

P_0 : Le poids du creuset remplis avant carbonisation en (g).

P_1 : Le poids du creuset remplis après carbonisation en (g).

III.4.3 Teneur de la cellulose et de l'hémicellulose

Principe

Cette méthode permet de déterminer la quantité de la cellulose et de l'hémicellulose dans chaque biomasse.

Mode opératoire

Une masse de 5 g de la matière sèche a été introduite dans un volume de 100 ml d'une solution de l'hydroxyde sodium NaOH (4%), le mélange a été ensuite agité pendant 14 heures. Après filtration, le filtrat obtenu a été récupéré et noté (filtrat 1). L'opération a été répétée une deuxième fois sur le résidu obtenu et le filtrat récupéré a été noté (filtrat 2). Après cette deuxième opération, le résidu a été rincé avec de l'eau distillée quatre fois, et avec l'acétone une seule fois, ensuite il a été séché dans une étuve à une température de 60°C pendant une nuit. La masse obtenue représente la teneur en cellulose dans 5 g de la matière sèche.

Les deux filtrats (1 et 2) obtenues précédemment ont été neutralisés par l'acide acétique concentré, ensuite mélangés avec de l'éthanol et laissé pendant une nuit. La solution obtenue a été ensuite centrifugée pendant 30 min à une vitesse d'agitation de 10000 tr/min. Le précipité obtenu a été rincé avec de l'eau distillée quatre fois et avec l'acétone une seule fois. Ensuite, il a été séché dans une étuve à une température de 60°C pendant une nuit. La masse obtenue est la teneur en hémicellulose dans 5 g de la matière sèche [46].

III.5 PRODUCTION DE BIOETHANOL

La production a été mise en œuvre à partir des deux biomasses lignocellulosiques séparément. Chaque matière a subi une série d'opérations afin d'obtenir à la fin le bioéthanol par distillation.

III.5.1 Hydrolyse acide diluée

Avant cette étape les substrats ont été rincés avec de l'eau distillée [15]. 100 g des épiluchures de *Solanum tuberosum* et 50 g des épiluchures de *Punica granatum* humides ont été introduites respectivement dans une solution de l'acide hydrochlorique (HCl) (0,5M). Par la suite, les deux solutions ont été agitées à une vitesse de 400 tr/min à l'aide d'un malaxeur de type "WiseStir HS-30D" à une température comprise entre 90-100°C pendant 30 min. Après refroidissement à l'air libre pendant 15 min, les deux solutions ont été rincées avec de l'eau trois fois et par l'eau distillée deux fois, ensuite chaque substrat a été récupéré par filtration [43] [47].

III.5.2 Elimination des inhibiteurs de la fermentation

Afin d'éliminer les inhibiteurs de la fermentation comme le furfural et l'hydroxyméthylfurfural, une correction de pH a été effectuée par une solution de NaOH (5M) jusqu'à atteindre un pH égale à 5 [48].

III.5.3 Hydrolyse enzymatique

Dans cette étape, deux enzymes ont été utilisées : 0,25 g de la cellulase et 0,25 g l'hémicellulase. La saccharification a été effectuée sous les conditions suivantes : T= 45°C, pH = 5 à une vitesse d'agitation égale 250 tr/min pendant une durée de 150 minutes. Ensuite, la solution a été incubée à 45°C pendant 48 heures. A la fin de saccharification, les enzymes ont été désactivés à une température de 95°C pendant 15 min [43] [49].

III.5.4 Fermentation

Une concentration de 10 g/l de la levure *Saccharomyces cerevisiae* industrielle a été ajoutée à l'hydrolysate (1000 ml de milieu fermentation composé de : 20 g extrait de malt, 0,5 g extrait de levure, 2 g (MgSO₄,7H₂O), 6 g de (NH₄)₂SO₄, 0,5 g de KH₂PO₄, 0,1 g CaCl₂, et 0,1 g (FeSO₄,7H₂O) (**Annexe I**), avec. La fermentation a été effectuée sous les conditions opératoires suivantes : La température égale à 30°C, pH égale à 4,7, la vitesse d'agitation égale à 250 tr/min pendant une durée de 72 heures pour les épluchures de la pomme de terre et 48 heures pour les épluchures de la grenade [43] [49] [50] [51].

Au cours de chaque fermentation, nous avons suivi :

- Le potentiel d'hydrogène (pH).
- Le taux des sucres totaux.
- Le taux des sucres réducteurs.

III.5.4.1 Mesure du pH

Le potentiel d'hydrogène a été mesuré par un pH-mètre de type "HANNA HI 2210". La détermination du pH est essentielle pour le contrôle du milieu, avant et au cours de la fermentation.

Mode opératoire

Le potentiel d'hydrogène a été mesuré par un pH-mètre de type "HANNA HI 2210" après chaque prélèvement au cours de la fermentation. Un volume de 10 ml du milieu de fermentation a été prélevé dans un bécher. L'électrode est plongée ensuite dans la solution et le pH est mesuré par une lecture directe de la valeur indiquée sur le pH-mètre. Cette opération a été répétée trois fois de suite.

III.5.4.2 Mesure des sucres totaux par la méthode de Dubois

Cette méthode vise de déterminer la teneur des sucres totaux dans l'hydrolysate au cours de la fermentation.

Principe

L'acide sulfurique concentré provoque à chaud le départ de plusieurs molécules d'eau à partir des oses. Cette déshydratation s'accompagne par la formation de l'hydroxyméthylfurfural dans le cas d'un hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune orange). L'intensité de la couleur varie selon la quantité des sucres présentés dans le milieu réactionnel. L'absorbance est mesurée à la longueur d'onde 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (**Annexe II**) [52].

Mode opératoire

Dans un tube à essai, un volume de 1 ml de la solution sucrée dix fois diluée (milieu de fermentation) a été introduit après chaque prélèvement. Un volume de 1 ml de phénol 5% a été rajoutée, ensuite 5 ml d'acide sulfurique concentré a été rajoutée aussi. Les tubes ont été laissés au repos pendant 10 minutes, ils ont été agités pendant 10 à 20 minutes puis placés dans un bain marie à une température de 30°C. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV de type "SHIMADZU UV-1800, Japon"

III.5.4.3 Mesure des sucres réducteurs par la méthode de Miller

Cette méthode vise à déterminer la concentration des sucres réducteurs au cours de la fermentation.

Principe

Cette méthode est basée sur le caractère réducteur des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres. En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange. L'intensité de la couleur varie selon le taux des sucres réducteurs présentés dans le milieu de réaction. L'absorbance est mesurée à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre [28] [53] [54].

Mode



Figure 3.1 : Schéma descriptive représente la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique en acide 3-amino 5-nitrosalicylique [55].

opératoire

Dans un tube à essai, un volume de 1 ml de la solution sucrée (milieu de fermentation) a été introduit. Un volume de 1 ml de réactif (DNSA) a été rajouté à cette solution. Ensuite, chaque tube a été laissé à l'eau bouillante pendant 5 minutes, puis il a été refroidi directement dans un bain d'eau glacé afin de stopper la réaction entre les sucres et le DNSA. Enfin, un volume 10 ml de l'eau distillée a été ajouté à cette solution. L'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type "SHIMADZU, UV-1800, Japon" et nous déterminons la concentration à l'aide de la courbe d'étalonnage (**Annexe III**).

III.5.5 Distillation fractionnelle de bioéthanol

Après avoir fermenté les sucres, nous avons effectué deux distillations fractionnelles afin de bien séparer le bioéthanol de l'eau. La température de la distillation été entre 78°C jusqu'à 82°C, et le temps été de 5 heures pour la première distillation et 1 heure pour la deuxième distillation.

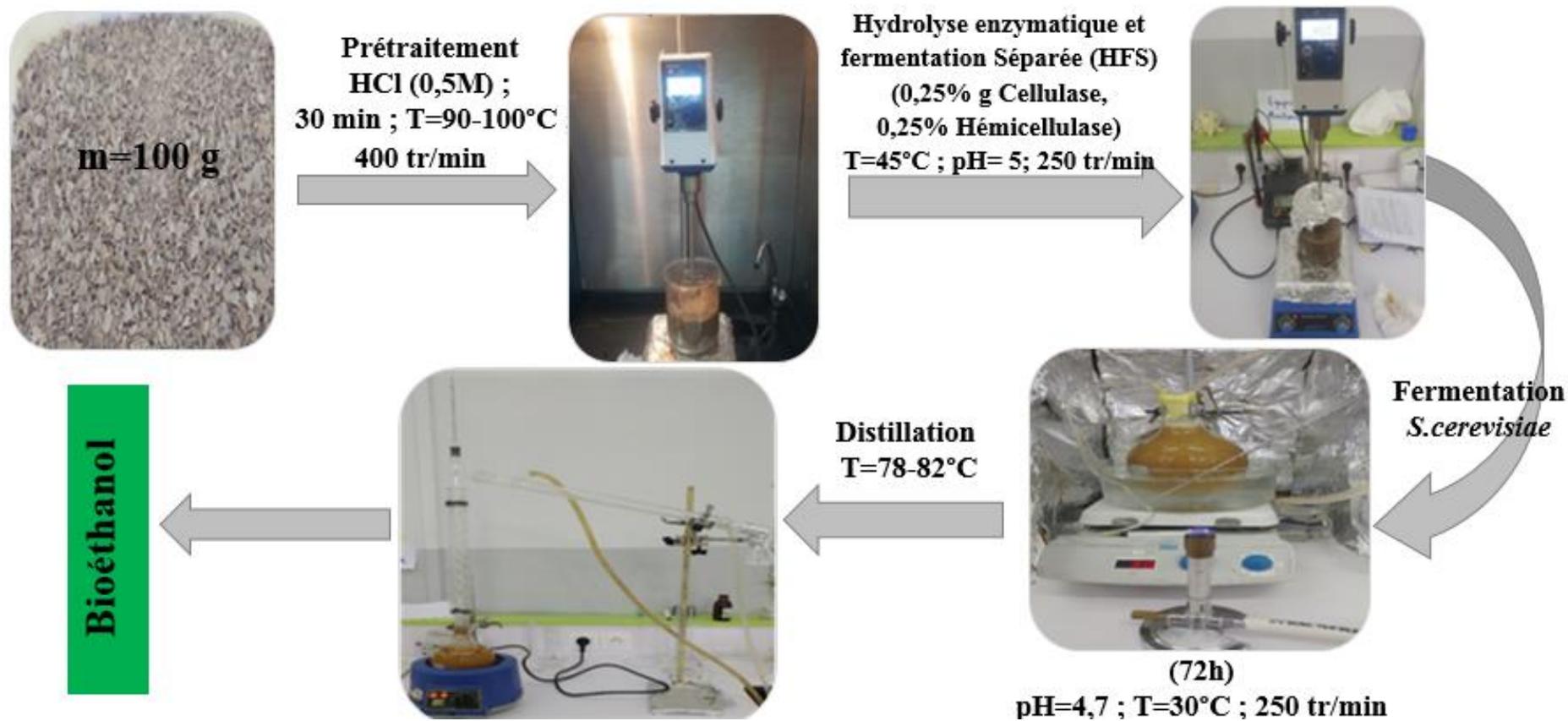


Figure 3.2 : Schéma descriptive représente les différentes étapes de la production de bioéthanol des épiluchures de la pomme de terre.

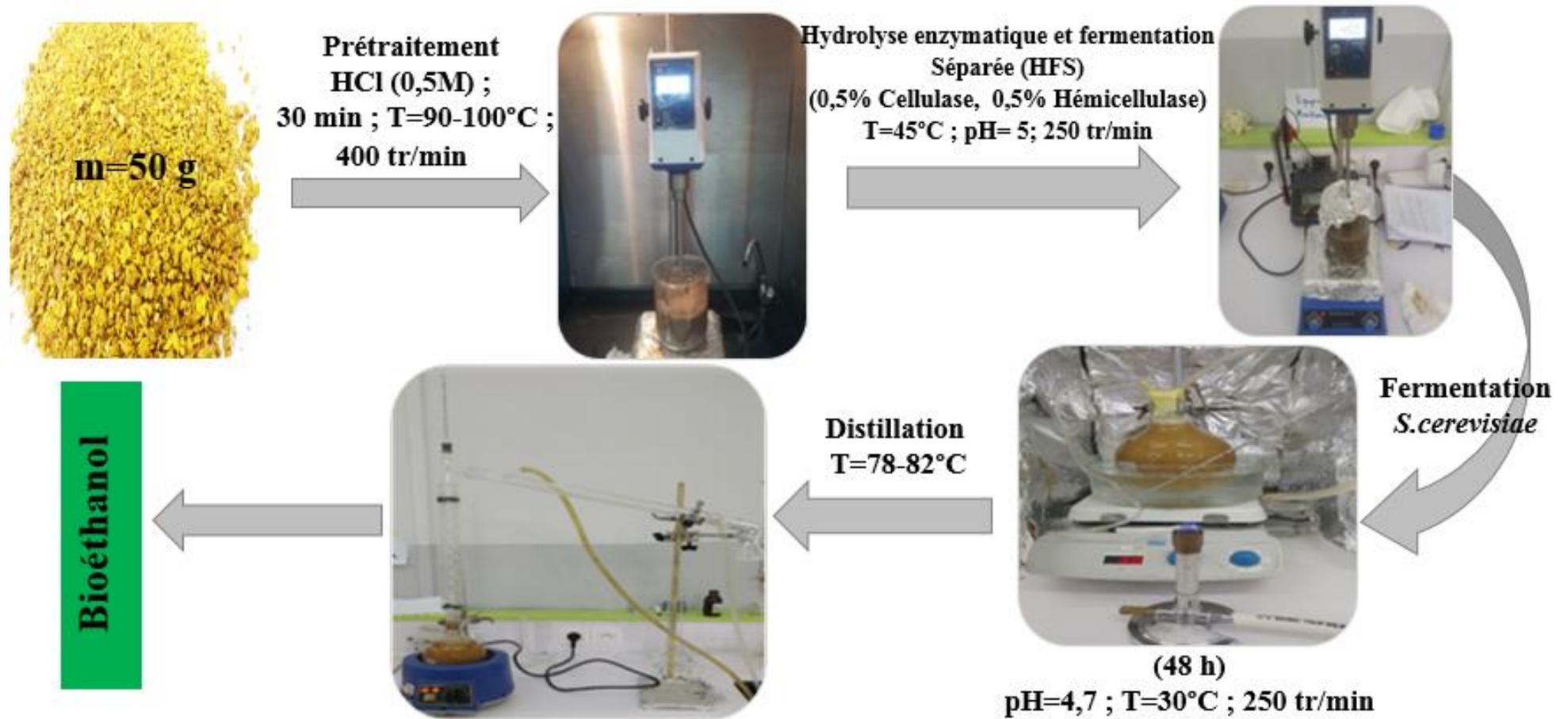


Figure 3.3 : Schéma descriptive représente les différentes étapes de la production de bioéthanol des épiluchures de la grenade.

III.5.6 Caractérisation du bioéthanol

III.5.6.1 Vérification de la pureté

La pureté a été mesurée à l'aide d'un réfractomètre. Une courbe d'étalonnage des indices de réfraction en fonction des différentes concentrations connues de l'éthanol absolu 100% a été faite afin de déterminer la pureté de notre bioéthanol.

III.5.6.2 Mesure de la densité

La densité de l'éthanol correspond au rapport de la masse volumique de l'éthanol par la masse volumique de l'eau. La mesure de la densité a été mesurée à l'aide d'un densimètre électronique de type "METTLER TOLEDO 30PX" (figure III.3). Chaque mesure a été répétée trois fois.



Figure 3.4 : Densimètre "METTLER TOLEDO 30PX"

III.5.6.3 Analyse qualitative du bioéthanol par Chromatographie en Phase Gazeuse

L'analyse a été réalisée à l'aide d'un Chromatographe "SHIMADZU GC-17A" muni d'un lecteur "SHIMADZU C-R8A".

Mode opératoire

Les conditions opératoires qui ont été effectuées sont :

- Type de la colonne : OV 17.
- Type de détecteur : FID.
- Pression : 54 mPa.
- Débit : 12 ml/min.
- Température de l'injecteur : 200°C.
- Température de la colonne : 85°C.
- Température de détecteur : 220°C

La quantité injectée est de 0,2 μL et chaque analyse a été répétée trois fois.

III.5.6.4 Analyse quantitative du bioéthanol par densimètre

La concentration de bioéthanol (fraction massique et fraction molaire) a été mesurée à l'aide d'un densimètre électronique qui permet de la mesurer dans le mélange eau-bioéthanol [57].

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSIONS

IV.1 CARACTERISATION DE LA MATIERE PREMIERE

IV.1.1 Taux d'humidité

Les résultats d'analyses de taux d'humidité de chaque biomasse sont exprimés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 4.1 : Taux d'humidité

Biomasse	Masse initiale (g)	Masse finale (g)	Taux d'humidité %
Épluchures de la pomme de terre	5	4,30	14
Épluchures de la grenade	5	4,25	15

IV.1.2 Taux de cendre

Les résultats d'analyses de taux de cendre de chaque biomasse sont classés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 4.2 : Taux de cendre

Biomasse	Masse initiale (g)	Masse finale (g)	Taux de cendre %
Épluchures de la pomme de terre	19,43	16,48	15,18
Épluchures de la grenade	21,48	16,90	8,75

IV.1.3 Teneur en cellulose et en hémicellulose

Les résultats d'analyses de la teneur de la cellulose ainsi que l'hémicellulose de chaque biomasse sont exprimés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 4.3 : Taux de la cellulose et l'hémicellulose

Biomasse	Teneur en cellulose (g/100g)	Teneur en hémicellulose (g/100g)
Épluchures de la pomme de terre	42,80	8,80
Épluchures de la grenade	23,60	0,65

Les résultats du tableau 4.3 montrent que le taux en cellulose est plus élevé que le taux en hémicellulose. Ces résultats sont comparables et proches à ceux des travaux déjà réalisés sur les biomasses lignocellulosiques, 55,25 g cellulose et 11,71 g hémicellulose pour les épluchures de la pomme de terre [45], 22,71 g cellulose pour les épluchures de la grenade [35]. Quant à la teneur en hémicellulose, (Paulo et al.) [34] ont mesuré la teneur en hémicellulose et pectine respectivement pour les épluchures de la grenade (8,1 g).

IV.2 EVOLUTION DU POTENTIEL D'HYDROGENE, DES SUCRES TOTAUX ET DES SUCRES REDUCTEURS AU COURS DE LA FERMENTATION

IV.2.1 Cinétique du pH

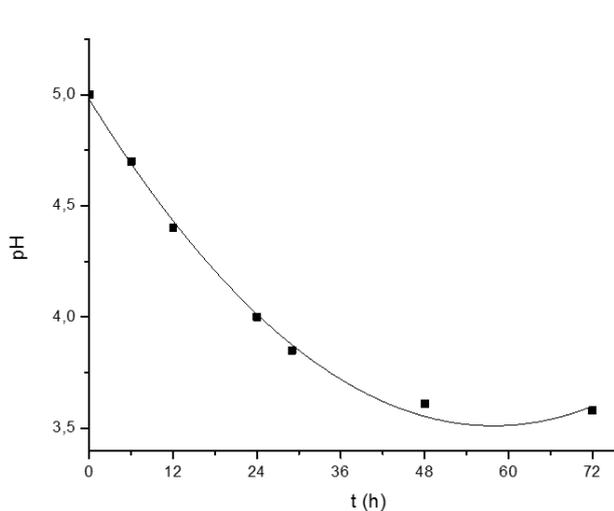


Figure 4.1 : Cinétique de pH de

Solanum tuberosum.

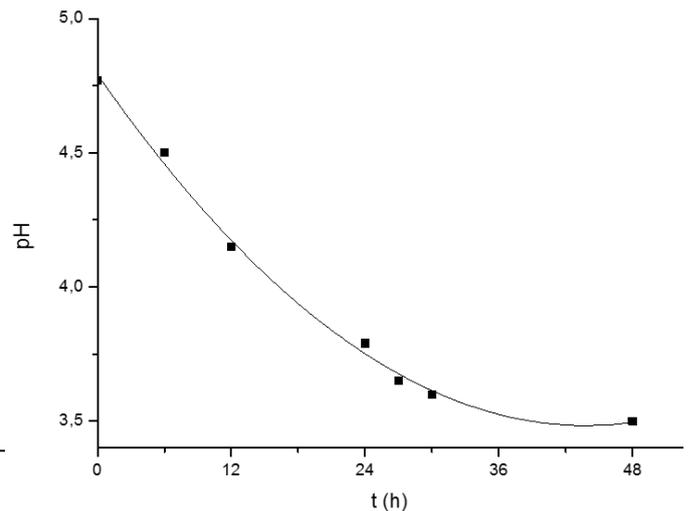


Figure 4.2 : Cinétique de pH de

Punica granatum.

Le pH est un bon indicateur de l'activité de la levure au cours de la fermentation. Selon les deux figures, le pH de a été diminué au cours des fermentations de chacune de ces deux biomasses. Il a été diminué de 5 jusqu'à 3,5 après 72 heures de fermentation pour les

épluchures de la pomme de terre, et de 4,7 jusqu'à 3,5 après 48 heures de fermentation pour les épluchures de la grenade. Cette diminution due à la formation du CO₂ produit par *Saccharomyces cerevisiae* suivie par la formation de bioéthanol [58].

IV.2.2 Cinétique des sucres totaux

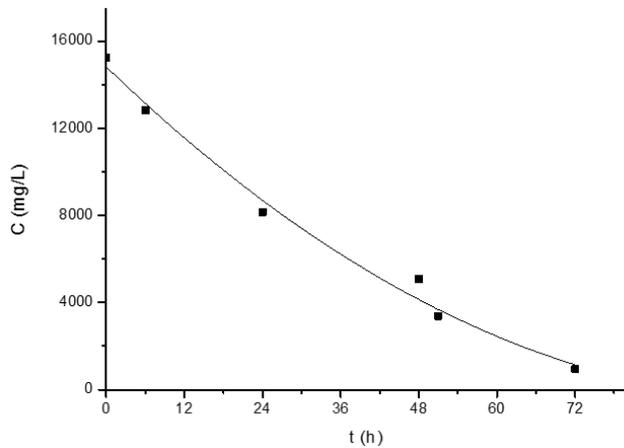


Figure 4.3 : Cinétique des sucres totaux de *Solanum tuberosum*.

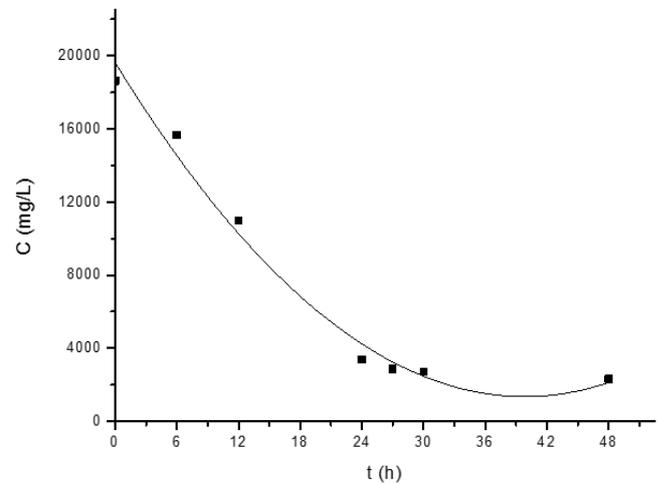


Figure 4.4 : Cinétique des sucres totaux de *Punica granatum*.

Les deux courbes des sucres totaux ont montrées qu'il y'a eu une consommation des sucres fermentescibles par la levure qui a été multipliée pour produire de bioéthanol durant les 72 heures et les 48 heures de fermentation pour les épluchures de la pomme de terre et de la grenade respectivement. La concentration des sucres totaux finale est de 0,94 g/L pour les épluchures de la pomme de terre et de 2,31 g/L pour les épluchures de la grenade. Cela montre que la majorité des carbohydrates ont été consommées par la levure durant la fermentation. Les conditions opératoires et les étapes de chaque procédé ont permis à la levure d'avoir des sucres simples fermentescibles comme une source de carbone afin de produire le bioéthanol. Conclusion, au cours de la fermentation, la levure se multiplie, les sucres fermentescibles sont consommés et la concentration de bioéthanol est en accroissement [58] [59].

IV.2.3 Cinétique des sucres réducteurs

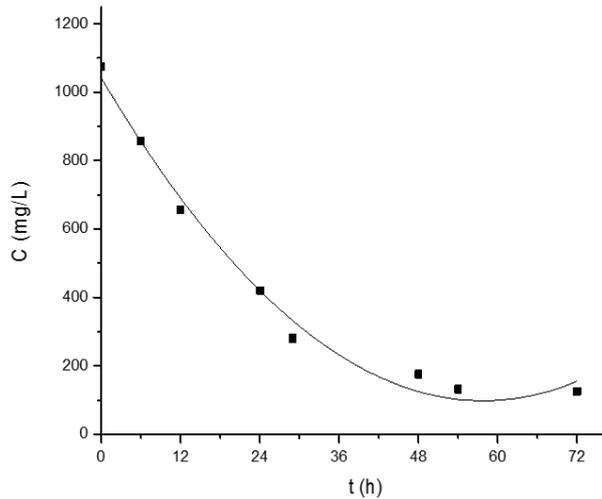


Figure 4.5: Cinétique des sucres réducteurs de *Solanum tuberosum*.

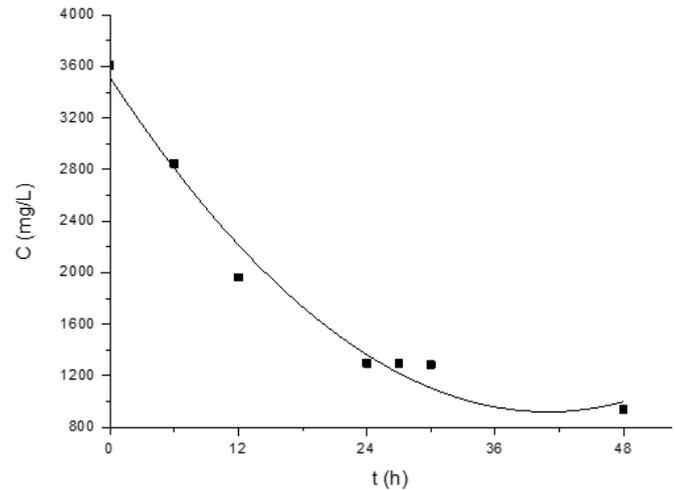


Figure 4.6 : Cinétique des sucres réducteurs de *Punica granatum*.

L'examen des deux figures montre que la concentration des sucres réducteurs des épluchures des deux espèces diminue en fonction du temps, au cours de la fermentation. Cela signifie que les sucres réducteurs ont été consommés complètement par la levure pour produire et synthétiser le bioéthanol jusqu'à atteindre une concentration finale égale à 0,12 g/L après 72 heures de fermentation pour les épluchures de la pomme de terre et une concentration finale égale à 0,93 g/L pour les épluchures de la grenade après 48 heures de fermentation. Cela montre que la majorité des sucres contenant dans les deux biomasses lignocellulosiques libérés au cours de l'étape d'hydrolyse enzymatique sont des sucres réducteurs fermentescibles (hexoses) par la levure *Saccharomyces cerevisiae* [59].

IV.3 INDICE DE REFRACTION (VERIFICATION DE LA PURETE)

La mesure de l'indice de réfraction permet de vérifier la pureté de l'éthanol et déterminer la concentration de l'éthanol recueilli.

Le graphe de la courbe d'étalonnage réalisée (**Annexe IV**) à partir des indices de réfraction à différentes concentrations d'éthanol (96%), nous a permis de déduire le pourcentage d'éthanol de la solution de distillation obtenue à partir de *Solanum tuberosum* (tableau 4.4) et *Punica granatum* (tableau 4.5) en adoptant différentes conditions opératoires au cours de l'étape de l'hydrolyse enzymatique et lors la fermentation. Les résultats de l'indice de réfraction et la concentration en éthanol (%) sont présentés dans les tableaux suivants.

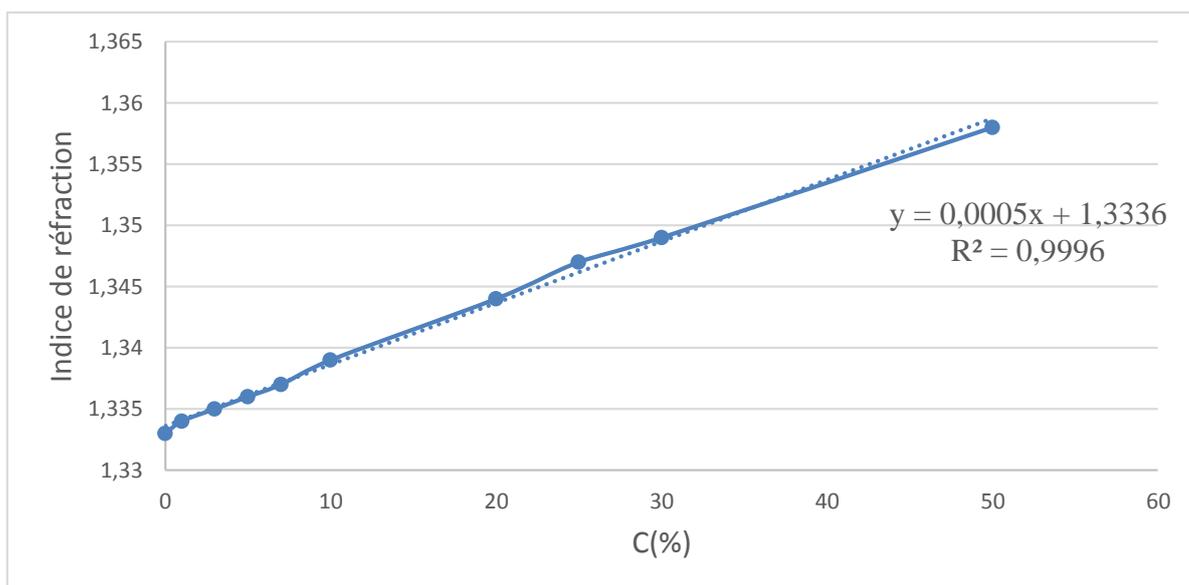


Figure 4.7 : Courbe d'étalonnage des indices de réfraction.

Tableau 4.4 : Indice de réfraction de l'éthanol obtenu à partir des épiluchures de *Solanum tuberosum*.

Biomasse	Conditions opératoires (étapes de l'hydrolyse enzymatique et la fermentation)	Indice de réfraction	Pureté
<i>S.tuberosum</i> 1	<ul style="list-style-type: none"> • m= 100 g, pH= 5 • 0,25% cellulase, 0,25% hémicellulase • T_{enzyme}= 45°C • milieu de fermentation sans glucose 	1,343	18,8
<i>S.tuberosum</i> 1 (bidistillé)	-	1,363	58,8
<i>S.tuberosum</i> 2	<ul style="list-style-type: none"> • m= 100 g, pH= 5 • 0,25 % cellulase, 0,25 % hémicellulase • T_{enzyme}= 45°C • milieu de fermentation avec glucose 	1,355	42,8
<i>S.tuberosum</i> 2 (bidistillé)	-	1,365	62,8

Tableau 4.5 : Indice de réfraction de l'éthanol obtenu à partir des épiluchures de
Punica granatum

Biomasse	Conditions opératoires (étapes de l'hydrolyse enzymatique et la fermentation)	Indice de réfraction	Pureté
<i>P.granatum</i> 1	<ul style="list-style-type: none"> • m= 50g, pH=5 • 0,5 % cellulase, 0,5 % hémicellulase • T_{enzyme}= 45°C • milieu de fermentation avec glucose 	1,346	26
<i>P.granatum</i> 1 (bidistillé)	-	1,362	58
<i>P.granatum</i> 2	<ul style="list-style-type: none"> • m= 50g, pH=5 • 0,5 % cellulase, 0,5 % hémicellulase • T_{enzyme}=45°C • milieu de fermentation avec glucose 	1,347	26,8
<i>P.granatum</i> 2 (bidistillé)	-	1,364	60,8

L'examen des résultats montre que la concentration en éthanol dépend de l'étape de l'hydrolyse enzymatique (concentration de l'enzyme et température d'incubation), de l'étape de fermentation (ajout du glucose ou sans dans le milieu de fermentation en présence de la levure *Saccharomyces cerevisiae*) et de la dernière phase de distillation.

Les résultats montrent qu'une meilleure concentration dans l'hydrolyse enzymatique est obtenue à une température d'incubation égale à 45°C. pH=5, C_{enzyme}=0,25% pour la pomme de terre et 0,5% pour la grenade).

Pour la biomasse épiluchure des pommes de terre, la meilleure concentration en éthanol est obtenue lorsqu'on a ajouté au milieu de fermentation du glucose (10 g/L) et avoir effectué une deuxième distillation où la concentration en éthanol a atteint 62,8% ; Tandis qu'avec l'échantillon où on n'a pas ajouté le glucose dans le milieu de fermentation, la concentration maximale est égale à 58,8%. A partir de ces résultats, nous pouvons dire que l'ajout de glucose représente comme une source de carbone dans le milieu de fermentation aide à

augmenter la concentration en éthanol et afin d'obtenir une concentration élevée aussi en bioéthanol, une deuxième distillation est indispensable.

Concernant les épiluchures de grenade, nous remarquons que la meilleure concentration en éthanol a atteint 60,8%.

IV.4 MESURE DE LA DENSITE

La mesure de la densité est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 4.6 : Densité de bioéthanol

T=20-21°C	
Echantillons	Densité
<i>Solanum tuberosum</i> 1 (sans glucose)	0,980
<i>Solanum tuberosum</i> 1 (sans glucose) (bidistillé)	0,854
<i>Solanum tuberosum</i> 2 (avec glucose)	0,947
<i>Solanum tuberosum</i> 2 (avec glucose) (bidistillé)	0,886
<i>Punica granatum</i> 1	0,964
<i>Punica granatum</i> 1 (bidistillé)	0,892
<i>Punica granatum</i> 2	0,956
<i>Punica granatum</i> 2 (bidistillé)	0,841
Ethanol	0,801

Une diminution de la densité au cours de la fermentation, peut être expliquée par la transformation du glucose en alcool et la perte de masse sous forme de CO₂ [60].

Les résultats obtenus montrent que la densité de bioéthanol de l'échantillon de pomme de terre et de grenade obtenue après une deuxième distillation est égale à 0,854 et 0,841 respectivement. Ces valeurs sont proches de la densité de l'éthanol 96% (d= 0,801).

Au vu de ces résultats, nous pouvons conclure qu'il y'a eu de la transformation du glucose en alcool.

IV.5 MESURE DE LA FRACTION MASSIQUE ET VOLUMIQUE

Les résultats obtenus après l'analyse quantitative du bioéthanol sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau 4.7 : fractions massiques et molaires de bioéthanol des deux espèces.

Bioéthanol obtenue (bidistillé)	Fraction massique (%)	Fraction massique (g/L)	Fraction volumique (%)
<i>S.tuberosum</i> 2 (sans glucose)	58,6	586	66,4
<i>S.tuberosum</i> 3 (avec glucose)	73	730	79,6
<i>P.granatum</i> 3 (avec glucose)	77,6	776	83,5
<i>Pgranatum</i> 4 (avec glucose)	46,8	468	57,6
Ethanol absolu 100%	99,5	995	99,7

L'examen des résultats montre que les concentrations massiques obtenues sont élevées à cause de l'effectuation d'une opération de bidistillation. Par rapport à l'éthanol pur, les concentrations massiques de bioéthanol pour les deux épiluchures ont été comparables avec celle de l'éthanol pur (995 g/L). Par contre ces résultats ont été plus élevées par rapport aux d'autres travaux effectuées comme le représente le tableau suivant :

Tableau 4.8 : Comparaison des différents travaux avec les épiluchures de la pomme de terre.

Biomasse	Conditions opératoires	Ethanol concentration (g/L)	Références
Epiluchures de la pomme de terre	<ul style="list-style-type: none"> Enzymes : Termanyl, viscozyme, cellulase $T_{enzymes} = 44^{\circ}\text{C} - 50^{\circ}\text{C}$ sous incubation pendant 2-2,5 heures Fermentation par <i>S.cerevisiae</i> pH= 5, 32°C, 100 tr/min 	7,5	Sunao et al.2009 [61]
Epiluchures de la pomme de terre	<ul style="list-style-type: none"> Enzymes : glucoamylase, alpha-amylase, pectinase $T_{enzyme} = 50^{\circ}\text{C}$ pendant 21 heures sous incubation. Fermentation par <i>S.cerevisiae</i> ; $C_{glucose} = 10 \text{ g/L}$ 	48,6	Arapoglou and al.2010
Epiluchures de la pomme de terre	<ul style="list-style-type: none"> Enzymes : α-Amylase, amyloglucosidase 60°C, 150 tr/min $t=72 \text{ h}$ sous incubation Fermentation par <i>S.cerevisiae</i> 30°C, 150 tr/min pendant 48heures, $C_{glucose} = 100 \text{ g/L}$ 	36,85	Gulten and al.2015

IV.6 ANALYSE QUALITATIVE DU BIOETHANOL PAR CPG

Les résultats de l'analyse chromatographique CPG de l'éthanol sont présentés dans les figures suivantes :

L'éthanol 96% ($t_R=2,283$)

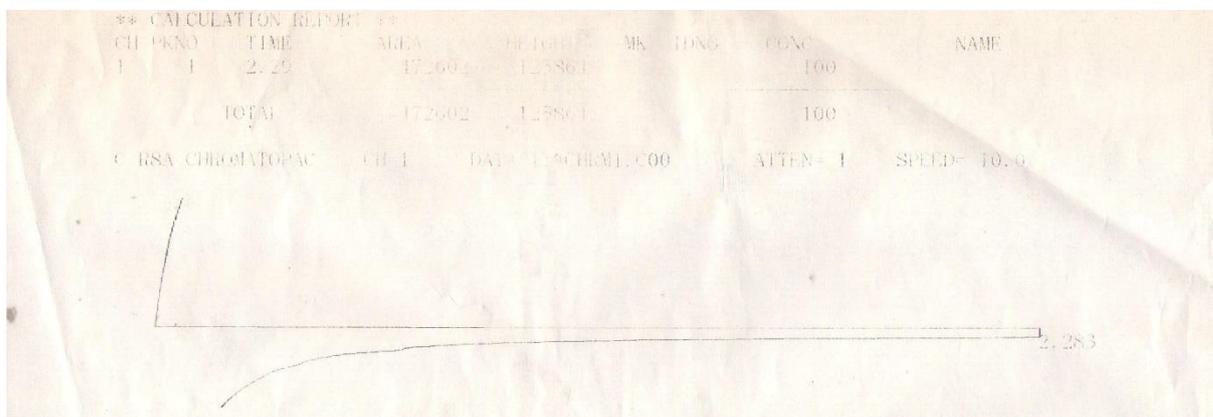


Figure 4.8 : Chromatogramme de l'éthanol 96%.

Bioéthanol des épiluchures de la pomme de terre ($t_R = 2,303$)

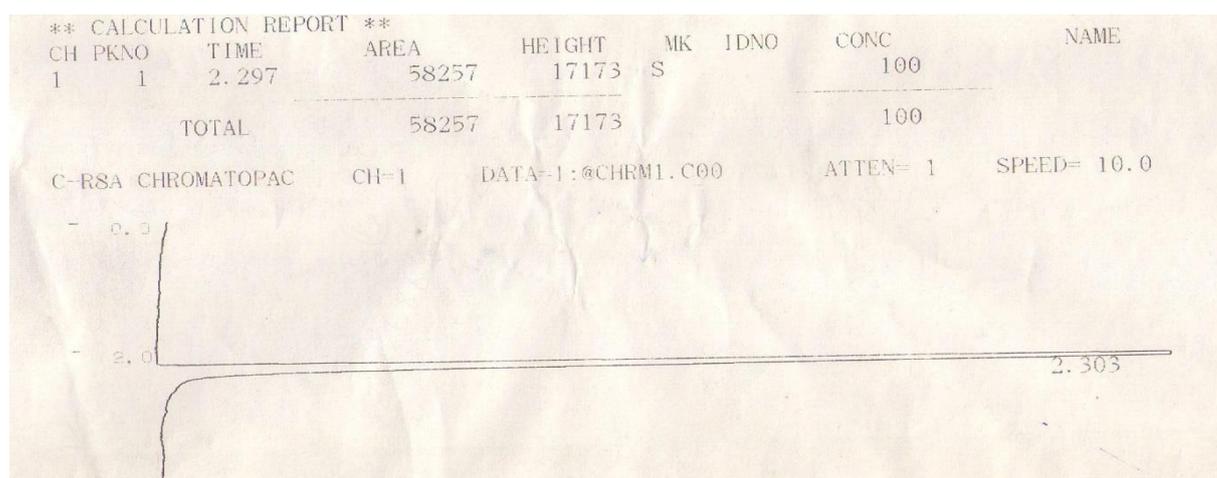


Figure 4.9 : Chromatogramme de bioéthanol des épiluchures de la pomme de terre.

Bioéthanol des épiluchures de la grenade ($t_R = 2,289$)

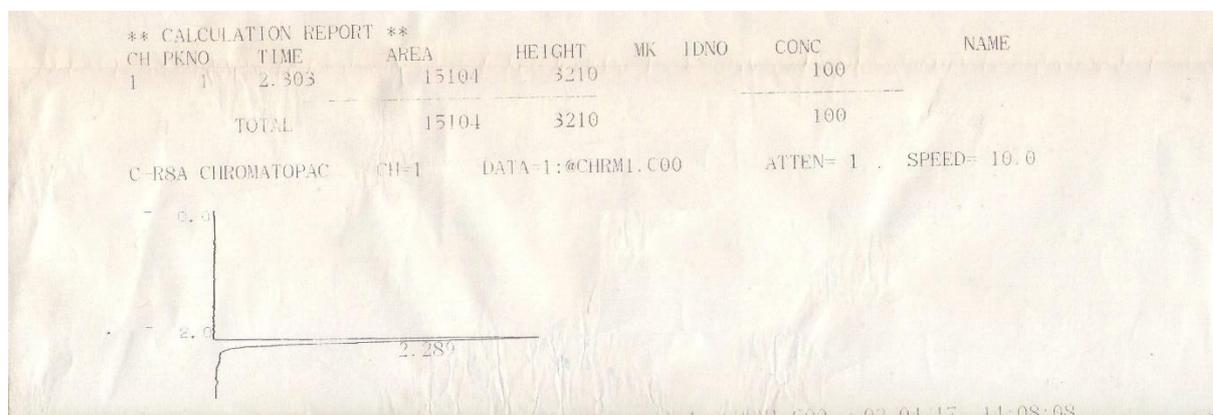


Figure 4.10 : Chromatogramme de bioéthanol des épiluchures de grenade.

L'identification du bioéthanol s'effectue en comparant l'indice de rétention du chromatogramme de l'éthanol 96% dans les mêmes conditions d'analyse. L'observation des chromatogrammes montre que le temps de rétention de l'éthanol 96% (2,283) est quasi proche du bioéthanol synthétisé à partir de la biomasse lignocellulosique des épiluchures de grenades (2,289) Et de la pomme de terre (2,303) respectivement.

CONCLUSION GENERALE

Le bioéthanol de seconde génération, produit à partir de la biomasse lignocellulosique, semble promis à un bel avenir. Effectivement, l'exploitation de la biomasse lignocellulosique pour la production de bioéthanol présente des aspects environnementaux positifs et l'incorporation de bioéthanol dans l'essence permet globalement une diminution des rejets de nombreux composés polluants. En effet, la combustion de bioéthanol engendre moins de rejets de gaz à effet de serre, de monoxyde de carbone, d'hydrocarbures gazeux que celle de l'essence.

L'objectif de ce travail était la valorisation d'un déchet issu d'une biomasse lignocellulosique pour la production du bioéthanol de la deuxième génération.

Une étude comparative de rendement de la production de bioéthanol a été réalisée à partir des épluchures de pomme de terre et les épluchures de grenade, en utilisant comme processus, la bioconversion de la matière lignocellulosique nécessitant un prétraitement, une hydrolyse enzymatique et une fermentation alcoolique en présence de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Le prétraitement a été réalisé par la méthode de l'hydrolyse acide diluée qui a permis une séparation des différents composants de la matière lignocellulosique.

L'hydrolyse enzymatique a permis d'avoir une bonne libération des sucres totaux (15,26 g/L) et des sucres réducteurs (1 g/L) pour les épluchures de pomme de terre (0,25% cellulase, 0,25% hémicellulase, 45°C) et aussi pour les épluchures de grenade (0,5% cellulase, 0,5% hémicellulase) où la teneur des sucres totaux étaient égale à 18,62 g/L et les sucres réducteurs 3,6 g/L.

L'étape de la fermentation a été effectuée en présence de la levure *Saccharomyces cerevisiae* en conditions anaérobiques sous les conditions opératoires suivantes : pH=4,7, T°=30°C, et à une vitesse d'agitation =250 tr/min. Les résultats obtenus ont démontré que la concentration en bioéthanol était égale à 730 g/L pour les épluchures de pomme de terre et égale à 776 g/L pour les épluchures de la grenade. Ces concentrations élevées de bioéthanol ont été obtenues après une bidistillation des hydrolysats fermentés.

D'après les résultats obtenus, la production de bioéthanol par la méthode de la saccharification et la fermentation séparée a permis de donner un bon rendement en bioéthanol.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Ashok Pandey, "Handbook of Plant-based Biofuels" CRC Press 2009, Vol 293 pages 13-184
- [2] Gerhard Knothe, Jon Van Gerpen, Jürgen Krahl "The Biodiesel Handbook" AOCS Press 2005 vol 146 page 9.
- [3] Graeme M. Walker "Bioethanol: Science and technology of fuel alcohol" Graeme M. Walker & Ventus Publishing, ApS 2010, Vol 114 page 9-75.
- [4] Ayhan Demirbas · M. Fatih Demirbas "Algae Energy: Algae as a New Source of Biodiesel" Springer-Verlag London Limited 2010, vol 204 pages 59-60.
- [5] Directive Européenne 2003/30/CE "journal officiel de l'Union Européenne" mai 2003.
- [6] Pratima Bajpai "Advances in Bioethanol" Pira International Ltd 2007, vol 114 pages 13-22.
- [7] "Largest bioethanol producing countries in 2015 (in billion liters)" disponible sur : <https://www.statista.com/>
- [8] Pratima Bajpai "Advances in Bioethanol" Springer 2013, vol 100 pages 79-86
- [9] Djamel BELAIA (2015) "La culture de la betterave à sucre et la production de sucre en Algérie". Vol 61 pages 4-6.
- [10] "La canne à sucre", services espaces verts et environnement, Allnantes vol 23 (2015).
- [11] "Le manioc, guide pour intensification durable de la production", FAO (2013) vol 128 pages 14-28
- [12] "Le sorgho, aliment spécifique des diabétiques". Disponible sur : www.plantesetsanté.fr
- [13] "Le maïs, son origine et ses caractéristiques". Disponible sur : www.pedagogie.org

- [14] Alison Mohr, Sujatha Raman "Lessons from first generation biofuels and implications for the sustainability appraisal of second generation biofuels" (Septembre 2013) Vol 9 pages 4-5.
- [15] Rafael Luque, Juan Campelo and James Clark "Handbook of Biofuels production" vol 674 Woodhead Publishing Limited, 2011 pages 204-215
- [16] Pratima Bajpai "Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production" Springer 2016 vol 93 pages 8-11
- [17] Kouadri Boudjeltia Abderrahmane "Cours de Biochimie Générale" OPU 2014 vol 47 page 31.
- [18] Jeremy Boucher "Etude des possibilités de production d'éthanol hémicellulosique dans le cadre d'une bioraffinerie papetière". Thèse de doctorat ; Université de Grenoble (juin 2014) vol 209 pages 17-58.
- [19] Muhammad Saif Ur Rehman, Ilgook Kim, Yusuf Chisti, Jong-In Han "Use of ultrasound in the production of bioethanol from lignocellulosic biomass" Energy Education Science and Technology
- [20] Ana-Maria Aguirre, Amarjeet Bassi, and Priyanka Saxena "Engineering challenges in biodiesel production from microalgae" Informa Healthcare (May 2012).
- [21] C.M. Kshirsagar, R. Anand "AN OVERVIEW OF BIODIESEL EXTRACTION FROM THE THIRD GENERATION BIOMASS FEEDSTOCK: PROSPECTS AND CHALLENGES" (juillet 2014)
- [22] Cíntia Simas-Rodrigues, Helena D. M. Villela, Aline P. Martins, Luiza G. Marques, Pio Colepicolo, and Angela P. Tonon, "Microalgae for economic applications: advantages and perspectives for bioethanol" (Février 2015).

- [23] Edem Cudjoe Bensah, and Moses Mensah “Chemical Pretreatment Methods for the Production of Cellulosic Ethanol: Technologies and Innovations” International Journal of Chemical Engineering 2013”
- [24] Valery B. Agbor, Nazim Cicek, Richard Sparling, Alex Berlin, David B. Levin “Biomass pretreatment: Fundamentals toward application” May 2011
- [25] C.Gomes, R.Pereira, P.Ribeiro, M.Souza “PRODUCTION OF 5-HYDROXYMETHYLFURFURAL (HMF) VIA FRUCTOSE DEHYDRATION: EFFECT OF SOLVENT AND SALTING-OUT”, Brazilian Journal of Chemical Engineering (October 2013)
- [26] De-Run Hua, Yu-Long Wu, Yun-Feng Liu, Yu Chen, Ming-De Yang, Xin-Ning Lu, Jian Li “ Preparation of furfural and reaction kinetics of xylose dehydration to furfural in high-temperature water”, Springer (December 2015)
- [27] Mosier N, Wyman CE, Dale BE, Elander R, Lee YY, Holtzapple MT (2005b) Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol* 96:673–686
- [28] BELKACEM Nacéra, “Contribution à l’étude des propriétés antidiabétiques de *Punica granatum L* chez les rats diabétiques”. Mémoire de magister 2009, université de Tlemcen vol 113 page 14-36.
- [29] İbrahim Kahramanoğlu, Serhat Usanmaz “Pomegranate Production and Marketing” CRC Press 2016 Vol 148 pages 3-7
- [30] Algérie presse service “Djelfa : La grenade de Messaàd, une marque déposée” (Décembre2016)
- [31] P.S. Negi, G.K. Jayaprakasha, B.S. Jena, “Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts” Food chemistry, (June2002).

[32] Pomegranate, *Punica granatum* 2013, disponible sur : www.cindyloouscrivner.com

[33] E.-S.Z. El-Ashtoukha, N.K. Amina, O. Abdelwahabb “Removal of lead (II) and copper (II) from aqueous solution using pomegranate peel as a new adsorbent” Desalination, (January2007).

[34] Paulo Henrique F. Pereira, Túlio Ítalo S. Oliveirab, Morsyleide F. Rosac, Fabio Lima Cavalcanteb, Graham K. Moatesd, Nikolaus Wellnerd, Keith W. Waldron, Henriette M. C. Azeredoc , “Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid” Biological Macromolecules, (March2016).

[35] Nejib Hasnaoui, Bernard Wathelet, Ana Jiménez-Araujo, “ Valorization of pomegranate peel from 12 cultivars: dietary fiber composition, antioxidant capacity and functional properties” Food chemistry, (March2014).

[36] Mélanie Spilmont , Laurent Léotoing , Marie-Jeanne Davicco , Patrice Lebecque , Elisabeth Miot-Noirault , Paul Pilet , Laurent Rios , Yohann Wittrant and Véronique Coxam “Pomegranate Peel extract prevents bone loss in a preclinical model of osteoporosis and stimulates osteoblastic differentiation *in Vitro*”2015.

[37] Jean-Claude Laberche “Biologie végétale”, Dunod 3^{ème} édition 2001 vol 305 pages 15-16.

[38] “Fiche technique valorisée des cultures maraîchères et industriels”, ITCMI (2010) vol 10.

[39] “La pomme de terre”, Année Internationale pour la Pomme de terre AIP (2008) vol 45.

[40] Boufares Khaled “ Comportement de trois variétés de pommes de terre (*Spunta*, *Désirée* et *Chubaek*) entre deux milieux de culture substrat et hydroponique” .Mémoire de Magister février 2012. Université de Telemcen Vol 108 pages 6-8.

[41] Pomme de terre en coupe disponible sur : <http://www.data.abuledu.org/>

[42] "Production de pomme de terre en Algérie" FAO 2016 disponible sur : <http://www.fao.fr>.

[43] D. Arapoglou, Th. Varzakas, A. Vlyssides, C. Israilides " Ethanol production from potato peel waste (PPW)" Waste Management (May 2010) vol 5.

[44] Igor Sepelev, Ruta Galoburda "INDUSTRIAL POTATO PEEL (*Solanum tuberosum*) WASTE APPLICATION IN FOOD (2015) vol 7

[45] P. Lenihan, A. Orozco, E. O'Neill, M.N.M. Ahmad, D.W. Rooney, G.M. Walker "Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass" octobre 2009 vol 9.

[46] El Zerey-Belaskri A Benhassaini H, Naimi W et Rahoui S, "Cellulosic and hemicellulosic fractions dosage of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* leaves in western Algeria", Natural Product Research (2013)

[47] Farid Talebnia, Dimitar Karakashev, Irini Angelidaki " Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation", Bioresource Technology (December 2009)

[48] Marija B. Tasic, Budimir V. Konstantinovic, Miodrag L. Lazic, Vlada B. Veljkovic " The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production" Biochemical Engineering Journal, (September 2008)

[49] Alim Dewan, Zheng Li, Binbing Han and Muhammad Nazmul Karim " Saccharification And Fermentation Of Waste Sweet Potato For Biethanol Production", Journal of Food Process Engineering (August 2013)

[50] Gulden Izmirliglu and Ali Demirci, "Enhanced Bio-Ethanol Production from Industrial Potato Waste by Statistical Medium Optimization", International Journal of Molecular Sciences (October 2015)

- [51] Gulden Izmirlioglu and Ali Demirci, "Enhanced Bio-Ethanol Production from Industrial Potato Waste by Statistical Medium Optimization", *International Journal of Molecular Sciences* 2015
- [52] Michel Dubois I, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and Fred Smith 1951, Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Analyt. Chem.* 26, p 351-356.
- [53] Gail Lorenz Miller. 1972. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428.
- [54] Vijay Prakash Meena, Mahesh Chand Meena, And Suman Lata Sharma "Quantitative Estimation Of Some Metabolites And Enzymes In Insect Induced Leaf Galls Of *Ficus Religiosa*", *International Journal of Life science and Pharma Research*, (September 2014)
- [55] réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique en acide 3-amino 5-nitrosalicylique, disponible sur : <http://biobharati.com/productdetail.php?id=MTU4>
- [56] MODECOM, (1993). « Méthode de caractérisation des ordures ménagères ». ADEME (Angers). Déchets ménagers et assimilés
- [57] Svetlana Nikolic, Ljiljana Mojovic, Marica Rakin, Dusanka Pejcin, Jelena Pejcin "Utilization of microwave and ultrasound pretreatments in the production of bioethanol from corn", Springer (March 2011) vol 594 p589.
- [58] Assia Mansouri, Rachida Rihani, Aicha Nadia Laoufi, Melek Özkan "Production of bioethanol from a mixture of agricultural feedstocks: Biofuels characterization", *Fuel* (August 2016)
- [59] Liang Zhang , Hai Zhao , Mingzhe Gan , Yanlin Jin , Xiaofeng Gao , Qian Chen , Jiafa Guan , Zhongyan Wang "Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scales", *Bioresource Technology*, (January 2011)
- [60] Boulal. A. Benbrahim. Z., Benali. B. et. Ladjel. S, « Etude comparative de rendement de la production d'éthanol de deux variétés de dattes communes de faible valeur

commerciale (Tinaceur et Aghmou) de Sud – Ouest de l'Algérie ». Revue des Energies Renouvelables Vol. 16 N°3 (2013).

[61] Sunao Yamada, Noriyuki Shinomiya, Kiyoshi Ohba, Mitsuo Sekikawa and Yuji Oda
“ Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Fermentation of By-Products from Potato Processing
Plants”, Food Sci. Technol, (August 31, 2009)

ANNEXE

Annexe I : Préparation de milieu de fermentation

Le milieu de fermentation de chaque biomasse a été préparé dans une fiole jaugée de 1000 ml, il est composé de : 20 g extrait de malt, 0,5 g extrait de levure, 2 g ($\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$), 6 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 g de KH_2PO_4 , 0,1 g CaCl_2 , et 0,1 g de sulfate de fer ($\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$) pour les épluchures de la pomme de terre seulement. Ensuite, le pH de cette solution a été corrigé à 5 par soit une solution de HCl (1M) ou NaOH (1M). Enfin cette solution a été stérilisée dans un autoclave réglé à une température de 120°C pendant 20 min.

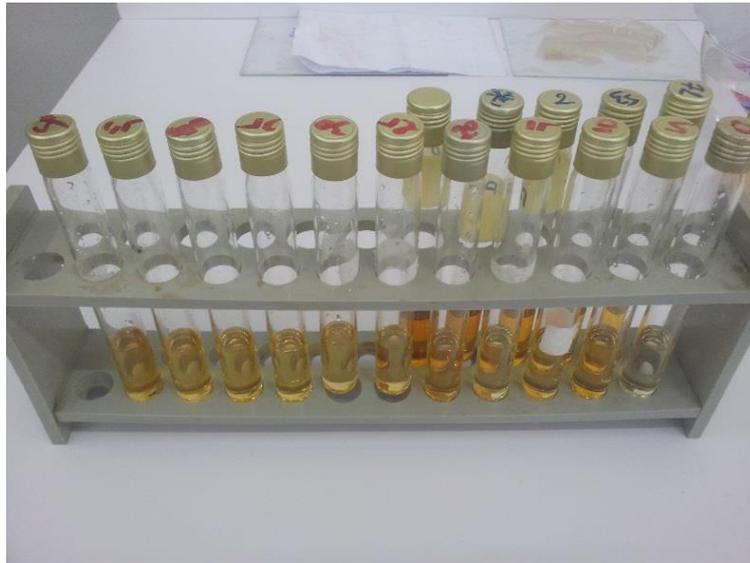
Annexe II : Dosage des sucres totaux par la méthode de Dubois

Une solution mère d'une concentration de 1 g/l de D-glucose a été préparée afin de tracer une courbe d'étalonnage des sucres totaux. Les solutions filles ont été préparées dans des fioles jaugées de 20 ml. Le tableau suivant représente les différentes concentrations effectuées.

Concentration (mg/l)	Volume prélevé (ml)
5	0,1
10	0,2
15	0,3
20	0,4
25	0,5
30	0,6
35	0,7
40	0,8
45	0,9
50	1,0

Dans une série tube à essai, un volume de 1 ml de chaque solution a été introduit. Un volume de 1 ml de phénol 5% a été rajoutée par la suite, ensuite 5 ml d'acide sulfurique concentré a été introduit aussi. Les tubes ont été laissés au repos 10 minutes, puis ils ont été agités et placés pendant 10 à 20 minutes à une température de 30°C.

L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV de type "SHIMADZU UV-1800, Japon".



Dosage des sucres totaux

La courbe d'étalonnage obtenue après l'analyse est représentée dans la figure ci-dessus :

C(mg/L)	Absorbance
0	0
10	0,131
30	0,329
150	1,719
225	2,432
300	3,291

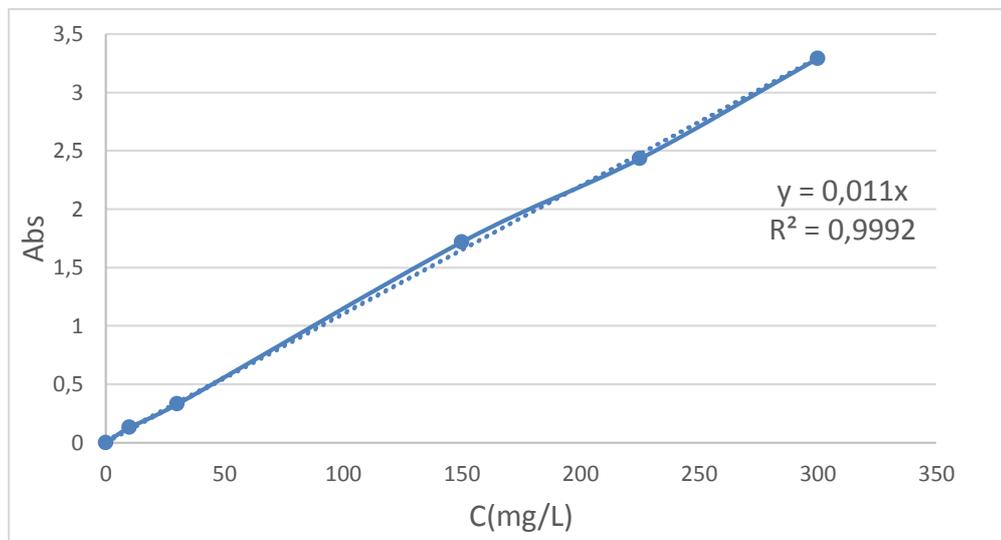


Figure : Courbe d'étalonnage des sucres totaux

Annexe III : Dosage des sucres réducteurs par la méthode de Miller

Une solution mère d'une concentration de 5 g/l de D-glucose a été préparée afin de tracer une courbe d'étalonnage des sucres totaux. Les solutions filles ont été préparées dans des fioles jaugées de 20 ml. Le tableau suivant représente les différentes concentrations effectuées.

Concentration (g/l)	Volume prélevé (ml)
0,1	0,4
0,2	0,8
0,3	1,2
0,4	1,6
0,5	2,0
0,6	2,4
0,8	3,2
1,0	4,0
1,2	4,8
1,6	6,4
2,0	8,0
2,6	10,4
3,5	14,0
4,0	16,0

Dans une série de tube à essai, un volume de 1 ml de chaque solution a été introduit. Un volume de 1 ml de réactif de DNSA a été rajouté par la suite. Les tubes ont été agités et placés dans un bain mari bouillant en même temps pendant 5 min. Ils ont été refroidis immédiatement dans un bain d'eau glacée afin de stopper la réaction entre les sucres et le DNSA. Enfin un volume de 10 ml d'eau distillée a été ajouté et les tubes ont été placés sous agitations. . L'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type "SHIMADZU, UV-1800, Japon".



Figure : Dosage des sucres réducteurs

La courbe d'étalonnage obtenue après l'analyse est représentée dans la figure ci-dessus.

Concentration (mg/L)	Absorbance
0	0
100	0,193
400	0,446
500	0,590
600	0,640
800	0,848
1000	1,095
1200	1,277
1600	1,659
2000	2,057
2600	2,622
3500	4,000

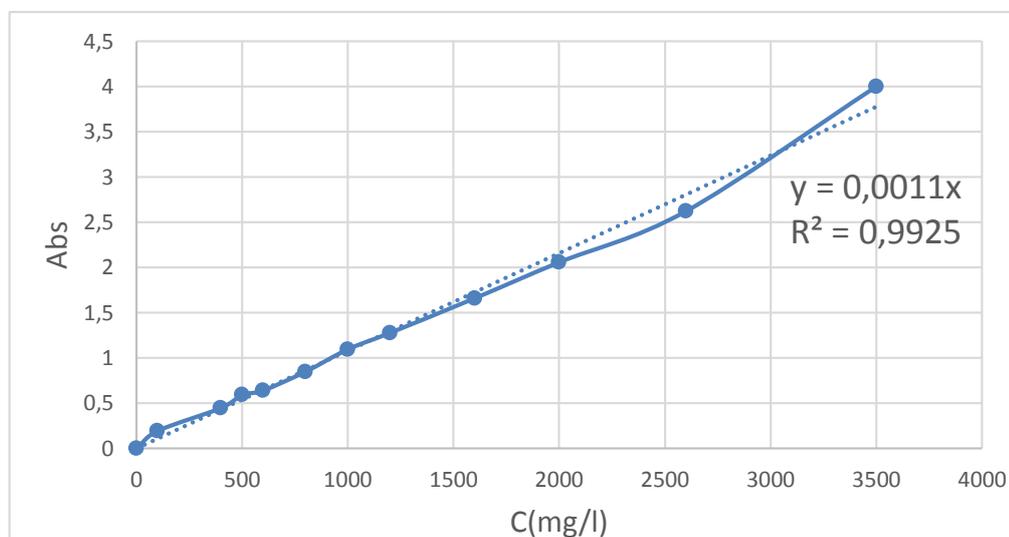


Figure : Courbe d'étalonnage des sucres réducteurs

Annexe VI : Mesure de l'indice de réfraction

Courbe d'étalonnage de l'indice de réfraction de l'éthanol à 100%

$$\eta_D^{*t} = A + (T' - T) * 0,0005$$

A : l'indice de réfraction lisez sur l'appareil

T° : température de lecture

T'° : température de milieu (20°C)

C(%)	Indice de réfraction
0	1,333
1	1,334
3	1,335
5	1,336
7	1,337
10	1,339
20	1,344
25	1,347
30	1,349
50	1,358