

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 : Génie de l'Environnement

Intitulé du mémoire

**Impact du prétraitement de la biomasse
lignocellulosique pour la production du
bioéthanol de seconde génération**

Présenté par :

Mlle. Aida Amal

Mlle. Kadri Rokiya

Encadré par :

Dr. Boutemak Khalida

Co-promoteur

M. Djeddou Sohaib

Année universitaire 2017/2018

REMERCIEMENTS

Au terme de cette étude, nous remercions Dieu le tout puissant de nous voir guidé à suivre le chemin de la science et nous a permis la réalisation de ce présent travail. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.

Nos plus vifs remerciements s'adressent à notre promotrice Docteur Khalida Boutemak pour nous avoir donné l'occasion de réaliser ce travail, et pour son amabilité, sa gentillesse et son soutien continu. Nous ne trouverons jamais les mots les plus appropriés pour exprimer la reconnaissance envers ses précieux conseils, ses encouragements et pour le temps qu'elle a dédié pour nous écouter. . Son encadrement était plus qu'exemplaire.

Nos remerciements s'adressent aussi à notre Co-promoteur M. Djeddou Sohaib qui a bien voulu, par son aimable bienveillance, diriger cette étude, et qui a fait preuve d'une grande patience. Ses conseils, ses orientations ainsi que, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour notre sujet de recherche nous ont permis de mener à terme ce projet.

Nos remerciements tous nos enseignants en particulier les Professeurs M. Abdel Malek Badis, porteur de notre option de génie des procédés : Génie de l'environnement, M. Ali Aouabed, M. Mohamed Wahib Naceur, pour leurs précieux conseils durant les années d'étude.

Nos remerciements à Mme BELHAJI LINDA et aux ingénieurs des différents laboratoires en particulier celui de l'ingénieure 116.

Nous tenons à remercier tous les membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements à tous nos camarades ainsi qu'à toute la promotion de Génie de l'environnement 2017-2018.

Enfin, ce travail n'aurait pas été mené à terme sans les encouragements de nos parents et de tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail, auxquels nous disons tout simplement merci.

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I

Figure 1.1 :	Structure de la biomasse lignocellulosique	4
Figure 1.2 :	Principaux composants de la biomasse lignocellulosique	5
Figure 1.3 :	composition de la biomasse lignocellulosique	5
Figure 1.4 :	Schéma descriptive de la cellulose	6
Figure 1.5 :	Schéma du type d'organisation cristalline de deux molécules de cellulose	6
Figure 1.6 :	Principaux glucides constituant l'hémicelluloses	7
Figure 1.7 :	Schéma d'une molécule de xylane	8
Figure 1.8 :	Les trois principaux monomères qui composent la lignine	8

CHAPITRE II

Figure 2.1:	Déchets organiques du restaurant	18
Figure 2.2 :	Bain à ultrasons	23
Figure 2.3 :	Réaction de réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique en acide 3-amino- 5-nitrosalicylique	26
Figure 2.4 :	Schéma descriptive représente les étapes de la production de bioéthanol par l'hydrolyse acide et onde ultrason.	27
Figure 2.5	Schéma descriptive représente les différentes étapes de la production de bioéthanol par le procédé de prétraitement enzymatique	28

CHAPITRE III

Figure 3.1 :	Cinétique de pH	31
Figure 3.2 :	Cinétique des sucres totaux	31
Figure 3.3:	Cinétique des sucres réducteurs	31
Figure 3.4 :	Cinétique de pH	32
Figure 3.5:	Cinétique des sucres totaux	32
Figure 3.6 :	Cinétique des sucres réducteurs	32
Figure 3.7 :	Cinétique de pH	33
Figure 3.8 :	Cinétique des sucres totaux	34
Figure 3.9 :	Cinétique des sucres réducteurs	34
Figure 3.10 :	Cinétique de pH	35
Figure 3.11:	Cinétique des sucres totaux	35
Figure 3.12:	Cinétique des sucres réducteurs	35
Figure 3.13:	Chromatogramme de l'éthanol 96%.	37
Figure 3.14:	Chromatogramme de bioéthanol par l'hydrolyse acide diluée	37
Figure 3.15:	Chromatogramme de bioéthanol par les ondes à ultrasons	38

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE I

Tableau 1.1 :	prétraitement de la biomasse lignocellulosique	12
Tableau 1.2:	Conditions, avantages et inconvénients d'hydrolyse à l'acide dilué	14
Tableau 1.3:	Conditions, avantages et inconvénients d'hydrolyse à l'acide fort	14
Tableau 1.4:	prétraitement avec biomasse lignocellulosique	16

CHAPITRE II

Tableau 2.1 :	Les Réactifs utilisés	19
---------------	-----------------------	----

CHAPITRE III

Tableau 3.1	Caractérisation de la matière première	30
Tableau 3.2 :	Mesure de la densité de bioéthanol	36
Tableau 3.3 :	Analyse quantitative de bioéthanol par densimètre	39
Tableau 3.4 :	Travaux des travaux sur déchet agroalimentaire	40

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

C5	sucre à 6 carbones
DNSA	Acide 3,5-dinitrosalicylique
HFS	Hydrolyse et Fermentation Séparée
λ	Longueur d'onde de la radiation
pH	Potentiel d'hydrogène
UV	Ultra-violet
HCl	Acide chlorhydrique
H ₂ SO ₄	
SSF	Saccharification et Fermentation Simultanée
CPG	La chromatographie en phase gazeuse
C6	sucre à 5 carbones
T	Température
mg	milligramme

Résumé

Notre étude porte sur la valorisation des déchets agroalimentaires de la biomasse lignocellulosique pour la production de bioéthanol de seconde génération. Ces déchets peuvent être transformés par divers procédés comme le procédé Saccharification et la Fermentation Simultanée (SSF) en utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae* sous conditions anaérobiques (pH=4,7, T=30°C, et une vitesse d'agitation de 400 tr/min). La production de bioéthanol a été réalisée par les méthodes suivantes : prétraitement par l'acide sulfurique-SSF, prétraitement par les ondes à ultrasons suivie par SSF, prétraitement par enzymes-ondes à ultra-sons suivi par SSF (EUSFF), et prétraitement par enzymes-ondes à ultra-sons suivi par fermentation en utilisant : la cellulase et l'hémicellulase. Durant la fermentation, nous avons suivi l'évolution de plusieurs paramètres à savoir : le pH, le taux des sucres totaux et réducteurs et la concentration de bioéthanol. A la fin, une importante dégradation du sucre est révélée, et la meilleure concentration de bioéthanol obtenue est de 75,5g/L pour le procédé de (EUSFF).

Mots clés : bioéthanol, biomasse lignocellulosique, déchets agroalimentaires, SSF, *Saccharomyces cerevisiae*

ملخص

تركز دراستنا حول تقييم نفايات الأغذية الزراعية من الكتلة الحيوية لإنتاج الإيثانول من الجيل الثاني. هذه النفايات يمكن معالجته بعمليات مختلفة مثل التسكر والتخمير في وقت واحد باستخدام خميرة الخبز تحت الظروف اللاهوائية (معدل الحموضة 4,7, درجة الحرارة 30 درجة مئوية, سرعة الدورن بمعدل 400 دورة في الدقيقة). إنتاج الإيثانول كان عبر الطرق التالية: حمض الكبريتيك ثم المعالج التسكر والتخمير في وقت واحد, المعالجة بالموجات فوق الصوتية والتسكر والتخمير في وقت واحد, المعالجة بالانزيم والموجات فوق الصوتية والتسكر والتخمير في وقت واحد. الانزيمات المستخدمة من قبل التخمير: سلولولاز و هميسيلولاز. أثناء التخمير, تابعنا العديد من المعلمات: درجة الحموضة ومستوى السكر وتركيز الإيثانول. في النهاية لاحظنا انخفاض كبير في السكر, وأفضل تركيز الإيثانول عليها ل/غ 75.7 من طرف (امت ت)

الكلمات الرئيسية: الإيثانول, الكتلة الحيوية, النفايات الغذائية, خميرة الخبز

Abstract

Our study relates to the valorization of agroalimentary waste of the lignocellulosic biomass for the production of ethanol fuel of second generation. This waste can be transformed by various processes like the process Saccharification and Simultaneous Fermentation (SSF) by using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* under anaerobic conditions (pH=4,7, T=30°C, and a stirring velocity of 400 tr/min). The production of ethanol fuel was carried out by the following methods: pretreatment by the sulphuric-SSF acid, pretreatment by the waves with ultrasounds followed by SSF, pretreatment by enzyme-waves with ultrasounds followed by SSF (EUSFF), and pretreatment by enzyme-waves with ultrasounds followed by fermentation while using: the cellulase and the hemicellulase. During fermentation, we followed the evolution of several parameters namely: pH, the rate of total and reducing sugars and ethanol fuel concentration. At the end, an important degradation of sugar is revealed, and the best ethanol fuel concentration obtained is of 75,5g/L for the process of (EUSFF).

Keywords: ethanol fuel, lignocellulosic biomass, agroalimentary waste, SSF, *Saccharomyces cerevisiae*

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I	
GENERALITES SUR LE BIOCARBURANT	3
I.1 DIFINITION DES BIOCARBURANTS.....	3
I.2 BIOETHANOL.....	3
I.3 LES GENERATIONS DES BIOCARBURANTS.....	3
I.3.1 La première génération.....	3
I.3.2 La deuxième génération.....	3
I.3.3 La troisième génération	4
I.4 LA PRODUCTION DE BIOETHANOL DE DEUXIEME GENERATION.....	4
I.4.1 BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE.....	4
I.4.1.1 CELLULOSE.....	5
I.4.1.2 HEMICELLULOSE.....	6
I.4.1.3 LA LIGNINE.....	8
I.4.2 RESSOURCES LIGNOCELLULOSIQUES.....	9
I.5 AVANTGE DE PRODUCTION DE BIOETHANOL A PARTIR DE LA ... BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE	9
I.6 ETAPES DE PRODUCTION DE BIOETHANOL A PARTIR DE LA BIOMSSE LIGNOCELLULOSIQUE	9
I.6.1 PRETRAITEMENT.....	9
I.6.1.1 PRETRAITEMENT EN MILIEU ALCALIN.....	10
I.6.1.2 PRETRAITEMENTS CHIMIQUES.....	10
I.6.1.2.1 PRETRAITEMENT A L'EXPLUSION A LA VAPEUR.....	10

I.6.1.2.2 PROCEDE ORGANOSOLV.....	10
I.6.1.2.3 ONDES A ULTRASON.....	10
I.6.1.2.4 PRINCIPE.....	10
I.6.1.2.3.2 MICANISME D’ACTION.....	11
I.6.1.3 PRETRAITEMENT CHIMIQUE	13
I.6.1.3.1 HYDROLYSE ACIDE DILUEE.....	13
I.6.1.3.2 HYDROLYSE ACIDE FORT.....	14
I.6.1.4 HYDROLYSE ENZYMATIQUE	14
I.6.1.5 HYDROLYSE ET FERMENTATION SEPEREE.....	15
I.6.1.6 SACCHARIFICATION ET FERMENTATION SIMULTANEE SSF.....	15
I.6.2 FERMENTAION	16
I.6.3 DISTILLATION	17

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES.....	18
II.1 OBJECTIF.....	18
II.2 PRESENTATION DE LA BIOMASSE ETUDIER	18
II.3 PREPARATION DE DICJET ORGANIQUE.....	19
II.2 REACTIFS.....	19
II.5 CARACTIRISATION DE MA MATIERE PREMIERE.....	20
II.6 PRODUCTION DE BIOETHANOL.....	23
II.6.4.1_ Mesure du pH.....	25
II.6.4.2 Mesure des sucres totaux par la méthode de Dubois.....	25
II.6.4.3 Mesure des sucres réducteurs par la méthode de Miller	26
II.6.5 Distillation	28
II.6.6 Caractérisation de bioéthanol	28
II.6.6.1 Mesure de la densité	28

II.6.6.2 Analyse qualitative de bioéthanol par chromatographie en phase gazeuse (CPG)	29
II.6.6.3 Analyse quantitative du bioéthanol par densimètre	29

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION.....	30
III.1 CARACTIRISATION DE LA BIOMASSE ETUDIER	30
III.2 Résultats des paramètres suivis lors de procédé de production de bioéthanol.....	30
III.2.1 Evolution du pH au cours de la fermentation alcoolique, des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le prétraitement par l'hydrolyse acide diluée suivi par SSF	30
III.2.2 Cinétique du pH, des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le prétraitement de la biomasse assisté par les ondes ultrasons suivie par SSF	32
III.2.3 Cinétique du pH, des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le procédé du prétraitement par enzyme-ondes à ultrasons suivi par SSF	33
III.2.4 Cinétique du pH, des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le prétraitement par enzyme-ondes à ultrason et fermentation	34
III.2.5 Mesure de la densité.....	36
III.2.6 ANALYSE QUALITATIVE DU BIOETHANOL PAR CPG.....	36
III.2.7 Analyse quantitative de bioéthanol par densimètre.....	39
CONCLUSION.....	41

INTRODUCTION

Après la conjoncture liée au prix élevé du pétrole, les réserves limitées d'énergie fossile (pétrole, gaz naturel et charbon) et l'épuisement de ces ressources dans un avenir proche, le développement de technologies et de systèmes énergétiques durables devient une priorité pour le secteur de transports. L'objectif est de diminuer la dépendance aux hydrocarbures de notre pays et de réduire le taux de pollution de notre environnement, en particulier la combustion des carburants fossiles. Celle-ci a contribué à l'augmentation des rejets de CO₂ dans l'atmosphère, qui est associé au réchauffement climatique, d'où la nécessité de réfléchir à des sources d'énergie alternatives durables (le soleil, le vent, l'eau et la biomasse).

Les biocarburants sont bien placés pour répondre aux soucis énergétiques, Ces derniers sont issus des sources de biomasse diversifiée tel que les plantes saccharifères comme la betterave, les plantes amylacées comme les céréales, dit de première génération, les plantes lignocellulosique comme le bois, les déchets alimentaires, dit de seconde génération.

La production de bioéthanol de 2ème génération est actuellement perçue comme étant la filière la plus prometteuse des biocarburants et suscite un grand intérêt dans de nombreux pays à travers le monde. En effet, la biomasse, dans sa grande majorité, est constituée de lignine (15 à 20%), de cellulose (35 à 50%) et d'hémicellulose (20 à 30%) plus ou moins intimement liés.

La problématique de cette étude est d'étudier l'impact du prétraitement de la biomasse lignocellulosique sur l'évolution des sucres au cours de la fermentation et sur la récupération maximale du bioéthanol de deuxième génération pouvant être utilisé dans les moteurs à essence et dans d'autres applications.

L'objectif de ce travail consiste à la production d'un biocarburant « Bioéthanol » à partir d'une biomasse lignocellulosique "déchet organique des restaurants". Le procédé de conversion des déchets organiques en bioéthanol est subdivisé en cinq parties principales : préparation des déchets organiques (hydrolyse acide diluée, ondes à ultrason et prétraitement enzymatique) suivi par l'étape de saccharification et fermentation simultanée et à la fin la distillation pour la récupération du bioéthanol.

Ce mémoire se compose de trois chapitres :

- Le premier chapitre comporte une synthèse bibliographique des généralités sur les bioéthanol, la composition de la biomasse lignocellulosique utilisée, et le procédés de production.
- le deuxième chapitre détaille les matériels et méthodes employés dans cette étude : la préparation de la biomasse, les prétraitements et le procédé utilisé ainsi que la méthode de caractérisation qualitative et quantitative du bioéthanol produit.
- le troisième chapitre est consacré à l'interprétation des résultats expérimentaux suivie d'une conclusion générale.

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LE BIOETHANOL

GENERALITES SUR LE BIOCARBURANT

I.1 Définition des biocarburants

Les biocarburants sont des sources énergétiques issues des matériaux biologiques qui les distinguent des autres sources d'énergie non fossiles. Quel que soit la forme des biocarburants (solide, liquide, ou gazeux), il représente une énergie durable et renouvelable d'origine végétale et/ou animale [1]. En fonction de la matière première utilisée et du produit fini souhaité, il existe de nombreuses possibilités de production de biocarburants tels que : bioéthanol, biogaz, bio-huile, biodiesel et bio-kérosène.

I.2 Bioéthanol

Le bioéthanol est le résultat de la bioconversion fermentaire de sucres par des microorganismes, généralement des levures. Les matières premières sont variées et peuvent être classées en trois catégories :

- les plantes saccharifères comme la betterave.
- les plantes amylacées comme les céréales.
- La biomasse lignocellulosique comme le bois, la paille, et les déchets agroalimentaires [2]

I.3 LES GENERATIONS DE BIOETHANOL

I.3.1 La première génération

La technologie du procédé de première génération produit du bioéthanol à partir de sucres (un dimère des monosaccharides glucose et fructose), d'amidon (polysaccharides de glucose) et des cultures telles que les céréales et le maïs. Les sucres peuvent être convertis en éthanol directement mais les amidons doivent d'abord être hydrolysés en sucres fermentescibles par l'action des enzymes à partir de malt ou de moisissures [3].

I.3.2 La deuxième génération

La matière première de bioéthanol de deuxième génération est constituée de matériaux lignocellulosique tels que la paille, le bois et les résidus agricoles, souvent disponibles sous forme de déchets. Ces types de matériaux sont bon marché, mais la technologie de traitement est plus avancée que la conversion du sucre et de l'amidon [3].

I.3.3 La troisième génération

C'est probablement à partir des cultures de microalgues que des agrocarburants, de troisième génération, pourront être produits avec les meilleurs rendements, rendant ainsi envisageable une production de masse, sans déforestation massive ni concurrence avec les cultures alimentaires [4].

I.4 LA PRODUCTION DE BIOETHANOL DE DEUXIEME GENERATION

I.4.1 Biomasse lignocellulosique

La biomasse lignocellulosique est constituée de trois composants majeurs : la cellulose (polysaccharide linéaire de glucose), les hémicelluloses (polysaccharides branchés de sucres à 5 et 6 atomes de carbone) et la lignine (un polymère complexe aromatique) [5].

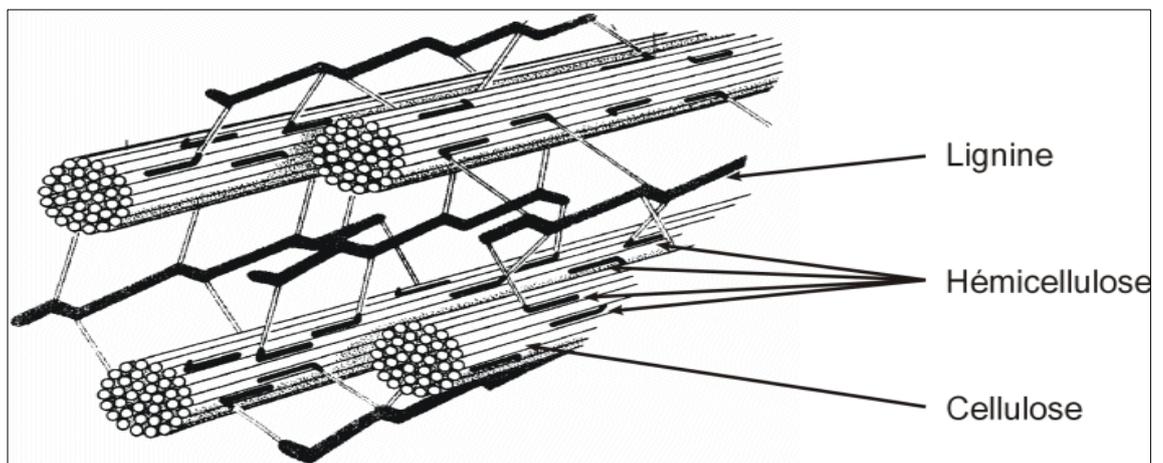


Figure 1.1 : Structure de la biomasse lignocellulosique [6]

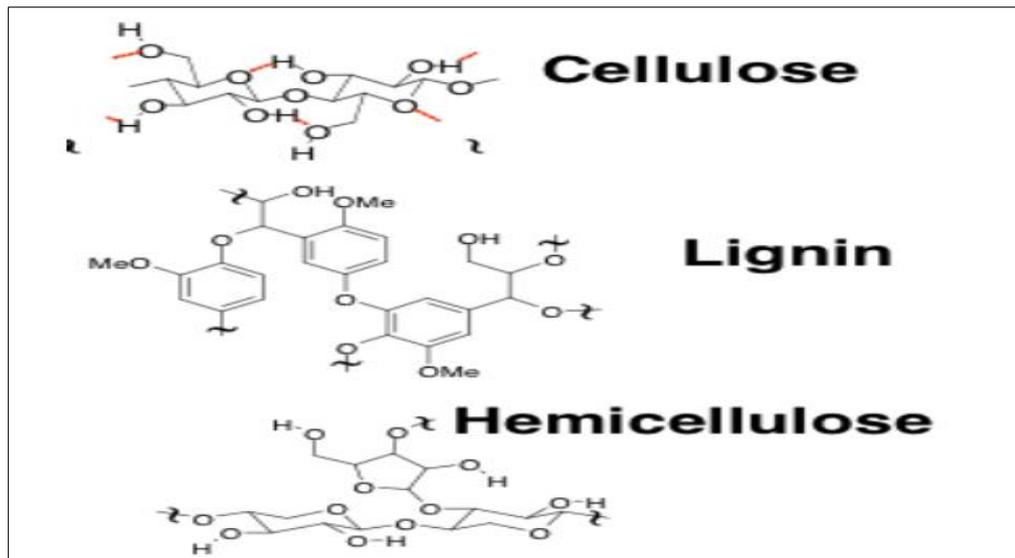


Figure 1.2: Principaux composants de la biomasse lignocellulosique [7]

En moyenne, la biomasse lignocellulosique contient 40-60 % de cellulose, 20-40 % d'hémicelluloses et 10-25 % de lignine, D'autres constituants tels que les cendres ou encore des protéines peuvent être observés en quantités beaucoup plus faibles [8].

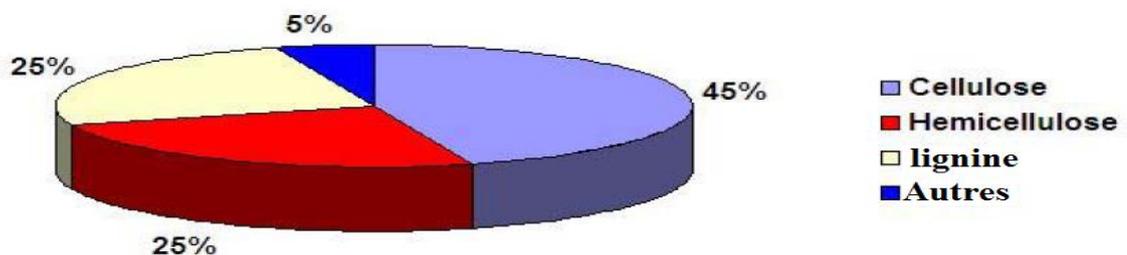


Figure1.3 : composition de la biomasse lignocellulosique[8]

I.4.1.1 Cellulose

La cellulose ou β -1-4-glucane est le polymère le plus abondant sur terre. C'est un homopolymère linéaire de glucose (Figure 1.4) composée d'unités répétées de cellobiose (deux glucoses liés par une liaison osidique β -1, 4) [9]. Cette liaison osidique confère aux chaînes de glucose une conformation tridimensionnelle spécifique stabilisée par des liaisons hydrogène (Figure 1.4).

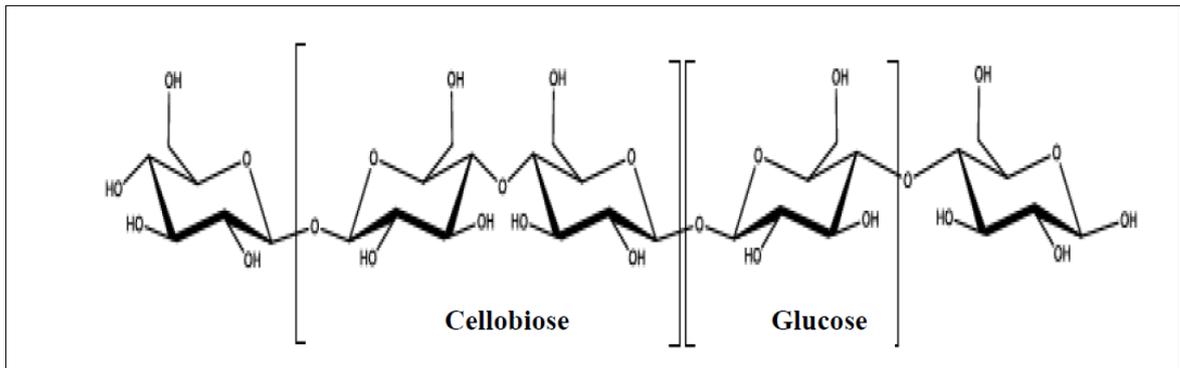


Figure 1.4 : Schéma descriptive de la cellulose. [10]

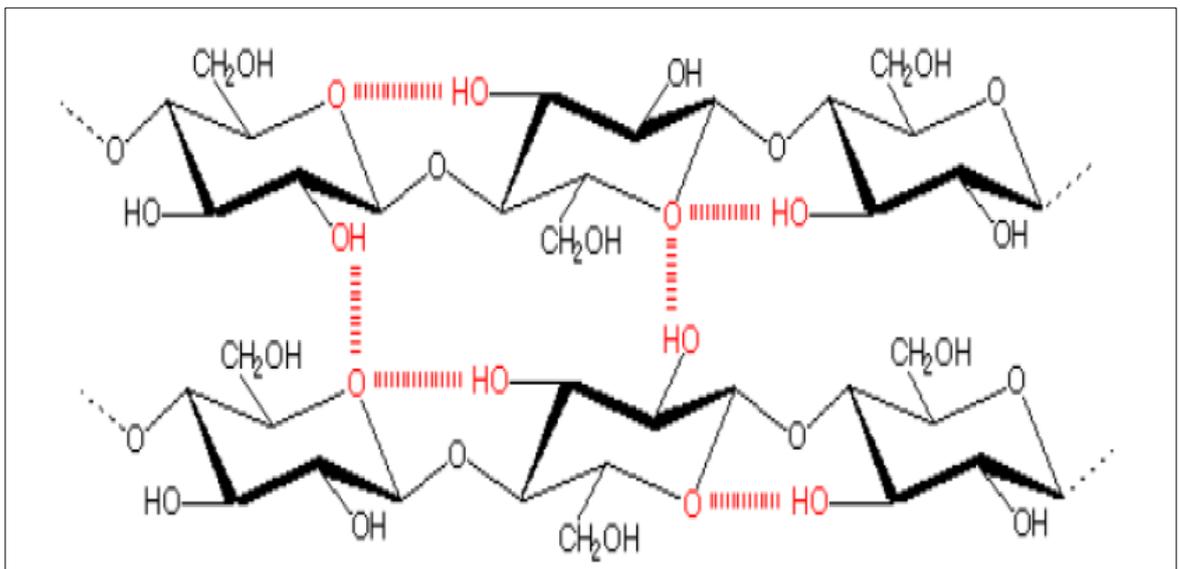


Figure 1.5 : Schéma du type d'organisation cristalline de deux molécules de cellulose [11]

Les microfibrilles de cellulose sont constituées d'édifices cristallins ordonnés ainsi que de zones dites amorphes beaucoup plus sensibles aux agressions physiques et chimiques [12]. Ces édifices cristallins rendent la cellulose résistante à l'hydrolyse enzymatique [13,14]. Enfin, même si la cellulose est considérée comme homopolymère, son analyse révèle que celle-ci est constituée à plus de 95% de glucose, d'autres sucres peuvent être présents tels que le galactose, le mannose ou la xylose [15].

I.4.1.2 Hémicelluloses

La famille des hémicelluloses représente le second composé en termes d'abondance dans les végétaux [16]. Les hémicelluloses ont un rôle structural dans les végétaux lignocellulosiques. En effet, elles permettent de faire la liaison entre la cellulose et la lignine. Les hémicelluloses forment une famille de composés hétéropolysaccharidiques variés. Les unités monomériques de ces

macromolécules glucidiques sont des pentoses (principalement xylose et arabinose), des hexoses (principalement glucose, mannose, galactose) et des acides carboxyliques (principalement les acides mannuronique et galacturonique) [16]. La Figure 5 montre les unités monosaccharidiques les plus représentées dans les différentes familles d'hémicelluloses.

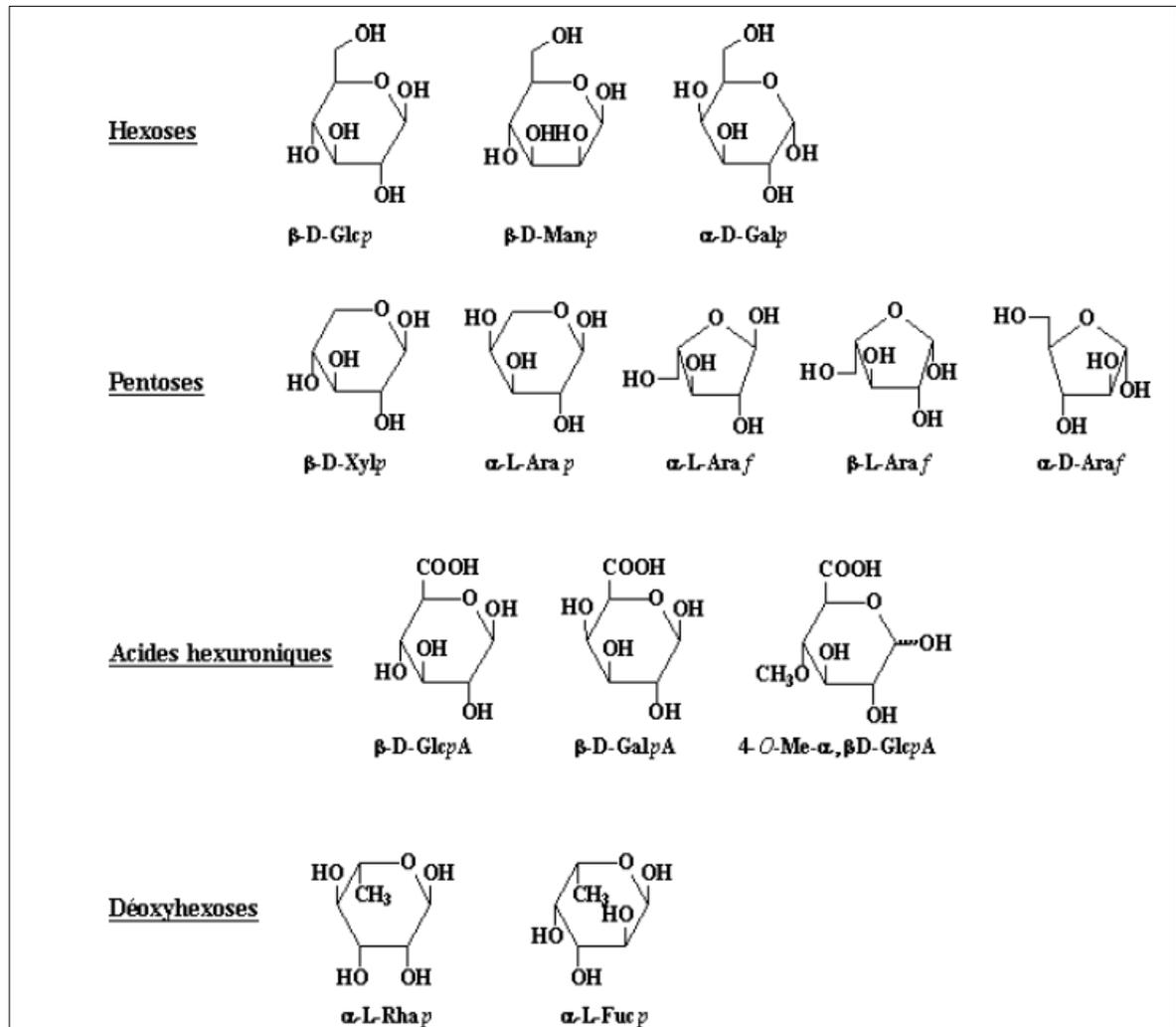


Figure 1.6 : Principaux glucides constituant l'hémicelluloses[16].

Les unités monomériques sont assemblées en chaînes ramifiées et constituent des macromolécules de nature amorphe. Le xylane, homopolymère constitué de xylose, est le constituant majeur des hémicelluloses. La Figure 6 représente le schéma d'une molécule de xylane [17].

Comparé à la cellulose, les hémicelluloses présentent de plus petites chaînes amorphes, ce qui facilite leur hydrolyse. En effet, les hémicelluloses sont solubles dans l'eau et peuvent être extraites de la paroi des cellules végétales par des solutions acides [17].

I.4.1.3 La lignine

La lignine est le troisième polymère le plus abondant dans la nature après la cellulose, et constitue le seul groupe de polymères biosynthétisés à squelette aromatique [18].

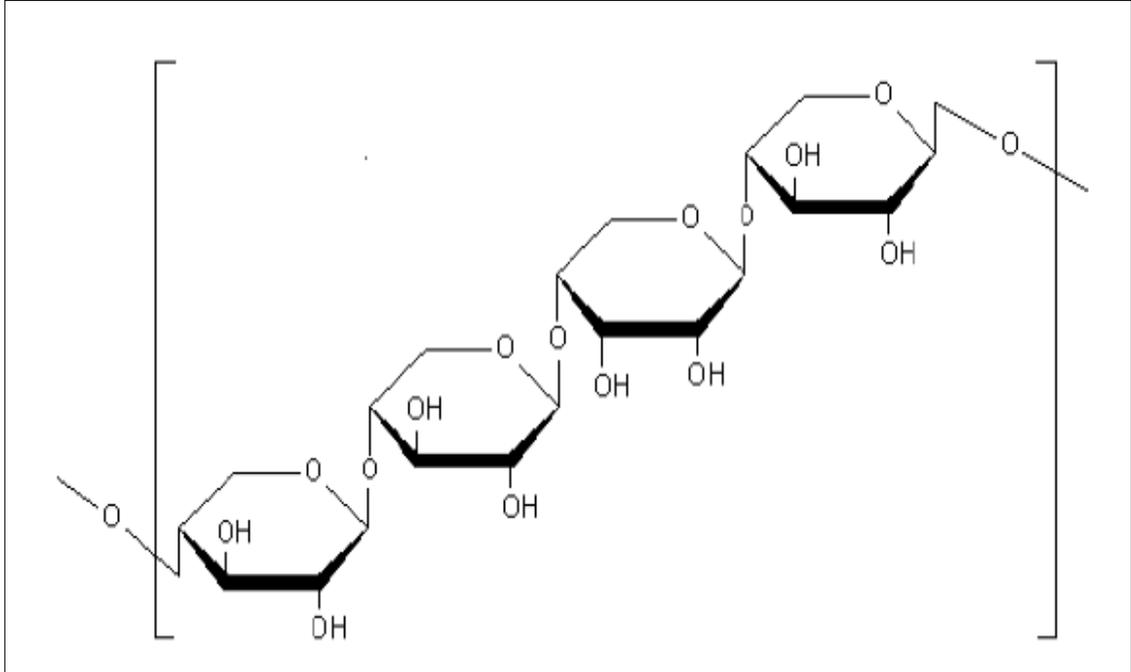


Figure 1.7: Schéma d'une molécule de xylane [16].

La lignine est polymérisée à partir de trois monomères phénylpropanoïdes, les alcools p-coumarylique, coniférylique et sinapylique, qui sont aussi connus comme monolignols H, G et S respectivement [19] (Figure 1.8).

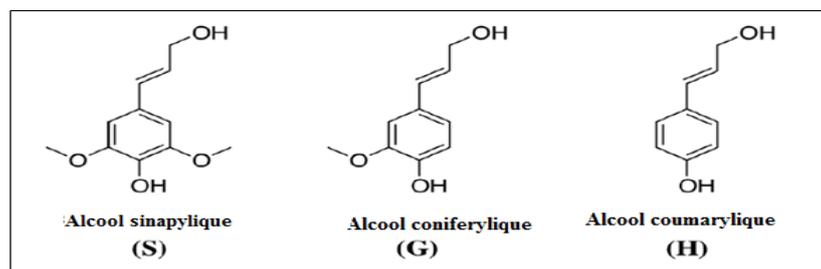


Figure 1.8 : Les trois principaux monomères qui composent la lignine [19]

I.4.2 Ressources lignocellulosiques

Les ressources exploitables proviennent :

- Des déchets agricoles ; pailles de céréale, tiges, bagasse de cannes à sucre, etc....
- Des déchets d'exploitation forestière ; il s'agit des branches, rameaux, feuilles et troncs abîmés qui sont laissés en forêt.
- Des déchets de l'industrie du bois (sciures, rebuts) et du papier (papiers usagés, liqueurs noires) [20].

1.5 Avantages de production de bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique

En premier lieu, les ressources en biomasse lignocellulosique sont renouvelables, ce qui veut dire que la dissipation de carbone dans l'atmosphère sous forme de CO₂ lorsque les gaz liquides sont brûlés, va être recyclée à travers le développement des plantes pour les années prochaines [21]. En second lieu, la biomasse lignocellulosique est disponible en grande quantité. En troisième lieu, le matériel cellulosique est en dehors de la chaîne alimentaire humaine, Et en dernier lieu, le processus de conversion de déchet en éthanol ne nécessite que quatre étapes [21] :

- Une étape de prétraitement afin de rendre le matériel accessible pour l'hydrolyse Enzymatique.
- Une hydrolyse pour rompre les molécules de cellulose et d'hémicellulose.
- Une fermentation de la solution de sucres formés.
- Une distillation pour la séparation de bioéthanol de l'eau.

La séparation des carbohydrates à partir des résidus, essentiellement la lignine, doit se faire pendant le processus. Cependant, la saccharification et la fermentation peuvent se faire séparément ou simultanément [22,23].

I.6 Étapes de production de bioéthanol de deuxième génération

La production de bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique nécessite donc la mise en œuvre de quatre étapes :

I.6.1 Prétraitement

Ce prétraitement a pour objectif de désorganiser la structure cristalline des macros fibres et des microfibrilles lignocellulosique, afin d'augmenter la surface des pores et ainsi rendre la cellulose plus accessible aux enzymes [24, 25]. La subtilité de ce prétraitement

réside dans la nécessité de ne pas dégrader les sucres de l'hémicellulose car cette dégradation conduit à une formation d'inhibiteurs de la fermentation, et ainsi abaisse le rendement global du procédé de production du bioéthanol [26].

I.6.1.1 Prétraitements en milieu alcalin

Le prétraitement en milieu alcalin vise à solubiliser la lignine et une partie des hémicelluloses. Cela induit un gonflement des fibres et rend ainsi la cellulose plus accessible aux enzymes [27]. Du sodium, du potassium, ou bien encore du calcium peuvent être utilisés même si l'hydroxyde de sodium est le plus utilisé [28]. Les conditions habituelles de ces prétraitements sont : une concentration de NaOH (de 8 à 12 % massique/matière sèche), une durée de 30 à 60 min à une température de 80-120 °C [29].

I.6.1.2 Prétraitements physicochimiques

I.6.1.2.1 Prétraitements par explosion à la vapeur

L'explosion à la vapeur qui consiste à chauffer rapidement le substrat par injection de vapeur saturée à haute pression puis à l'amener à pression atmosphérique par une détente brutale, qui désintègre la matière [30][31][32]. Elle est généralement effectuée dans une gamme de températures de 160 à 260 °C et une gamme de pression de 0,69 à 4,83 MPa [33,34].

I.6.1.2.2 Procédé Organosolv

Le principe de cette technique, venant de l'industrie papetière, consiste à rajouter un solvant organique au procédé de prétraitement, afin de dissoudre et d'extraire la fraction lignine. Ce prétraitement aboutit à la solubilisation de la lignine et de la fraction hémicellulosique, et conduit à un résidu solide constitué essentiellement de cellulose [35].

I.6.1.2.3 Ondes à Ultrasons

I.7.1.2.3.1 Principe

Les ondes à ultrasons sont des ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. Elles sont principalement caractérisées par leur fréquence (20 kHz-500 MHz) pendant une durée de 5 à 15 min [36].

I.6.1.2.3.2 Mécanismes d'action

Les principales grandeurs physiques caractéristiques des ultrasons sont la fréquence f (Hertz), la longueur d'onde λ (cm), la vitesse de propagation c (m/s) et la puissance P (W). Dans notre étude, on s'intéresse à l'application des ultrasons dans un milieu liquide, cela repose sur l'utilisation des effets de la cavitation. Lorsque les ondes se propagent dans un milieu solide-liquide, des bulles de gaz appelées bulles de cavitation peuvent être formées par des cycles d'expansion et de compression. Lorsqu'une intensité élevée (10 – 1000W/cm²) est introduite, les bulles de cavitation peuvent devenir instables et entrent en collision. Cela entraîne des pressions pouvant atteindre localement des valeurs importantes (500 bar) et un chauffage local intense (5000 °K). Les membranes ou parois cellulaires se trouvant à proximité subissent alors d'importants cisaillements répétitifs et leur perméabilité peut être augmentée [37].

Dans la plupart des études, l'éthanol ou l'eau distillée ont été utilisés pendant le traitement par ultrasons. La puissance et la température appliquée variaient de 140 à 600 W et de 17 à 75 °C selon la nature de la biomasse. Nikolić *et al.* (2010) [38] ont montré que les ultrasons peuvent également être utilisés comme méthode de prétraitement pour l'amélioration de la production du bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique. Un prétraitement de courte durée de 5 min par ultrasons suivi d'une saccharification et d'une fermentation a permis d'augmenter le rendement de production de bioéthanol.

Le tableau suivant représente quelque prétraitement de la biomasse lignocellulosique :

Tableau 1.1 : prétraitement de la biomasse lignocellulosique

Biomasse	Prétraitement	Conditions opératoires	Références bibliographiques
Olive	Hydrolyse acide diluée	pH 4,8 T= 50°C t =72 h	Cristo bal Cara Manuel Moya Ignacio Ballesteros Ma Jose´ Negro Alberto Gonza´lez
La bagasse de canne à sucre	Onde a Ultrason	F=22 kHz P=100 W, t =5-35 min T= 55 °C	Sun J-X, Sun R, Sun X-F, Su Y 2004
Bois de peuplier	Onde a Ultrason	F=20-25 kHz P=400-1200 W	Chen W, Yu H, Liu Y, Chen P, Zhang M, Hai Y. 2011
Grignons d'olive	Ondes à Ultrason	F=20khz T=20C° t= 15 min	Paulina Leite ,José Manuel 2016
Déchets Mandarin,	Explosion à la vapeur	T= 180°C à 240°C P=10 à 50 bar T=10 s	Sharma N et al. 2007
Paille de blé	Microondes en milieu alcalin	Etape 1 : P=700W t=25min m=20g dans V=160ml Solution (1 %NaOH) Etape 2 : T=100°C t=60min Témoin : M=20g dans V=160ml	Shengdong Zhu et al. 2006 (Zhu et al. 2006a)

		Solution (1 %NaOH) T=100°C t=60min	
Déchets alimentaires	Ultrason et acide	F=25 kHz P= 400-1200W H2SO4 T=120-210 °c t=30-90min	Elbeshbishy E et al. 2011
déchets alimentaires	Alcaline	pH=12.5 NaOH t =30 à 60 min T= 80 à 120°C	Kim DH et al. 2010
Les Déchets de papier	Ultrason	F=36 kHz, P=150 W t=7-60 min	Wood BE, Aldrich HC, Ingram LO 1997

I.6.1.3 prétraitement chimique

Deux procédés d'hydrolyse chimique ont été développés :

I.6.1.3.1 L'hydrolyse à l'acide dilué

C'est un procédé qui utilise un acide à une concentration de 1 à 3% pendant une courte période de l'ordre de 3 min et des températures de 180 à 240°C. Le rendement maximal en glucose atteint dans l'hydrolysate reste faible est de 60%. De plus, une grande partie des pentoses est transformée en furfural. C'est dans le but d'améliorer le rendement et de palier le problème des inhibiteurs [39].

Tableau 1.2 : Conditions, avantages et inconvénients d'hydrolyse à l'acide dilué [39]

Conditions	Avantages	Inconvénients
H ₂ SO ₄ à 1% T=190-215°C t= 5-10min	Réacteurs simples	Risque de dégradation des sucres en furfural

I.6.1.3.2 L'hydrolyse à l'acide fort

L'acide est utilisé à une concentration de 20 à 40%, à des températures plus faibles (de 50 à 100°C). Ce procédé présente l'avantage d'atteindre un rendement de 90% de récupération des sucres, mais nécessite un coût d'investissement plus élevé pour faire face à la corrosion et au recyclage de l'acide [40].

Tableau 1.3 : Conditions, avantages et inconvénients d'hydrolyse à l'acide fort [39].

Conditions	Avantages	Inconvénients
H ₂ SO ₄ à 20-40 % T=50-100°C Temps : quelques min à 4 heures	-Procédé rapide, -Conditions faciles -Peu d'inhibiteurs formés	-Corrosion des matériaux -Recyclage de l'acide -Procédé complexe

I.6.1.4 Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique des polysaccharides est la transformation biochimique de la cellulose et des hémicelluloses en sucres simples par des enzymes sécrétées par des microorganismes (bactéries et champignons) [40]. Des enzymes hautement spécifiques favorisent à 100% la transformation de la cellulose en glucose sans formation de produits indésirables (inhibiteurs), ce qui rend ce procédé très attractif par rapport à l'hydrolyse chimique [40]. De plus, les conditions opératoires moins agressives (50°C, pH=5) que l'hydrolyse chimique n'entraîne pas de problème de corrosion des installations.

Les cellulases sont très sensibles à la température, après 5 heures d'incubation à différentes températures, ces enzymes sont stables jusqu'à une température de 37°C et qu'elles perdent

20 % de leurs activités entre 37 et 50°C. Au-delà de 50°C, l'activité décroît brusquement pour n'avoir presque plus d'activité au-dessus de 70°C [41]. Les conditions optimales pour l'action des cellulases sont, une température de 45 à 50°C et un pH de 4,8. Le temps d'action, lui, dépend de la quantité de l'enzyme utilisée et de son activité [42]

L'hydrolyse de l'hémicellulose sur la biomasse lignocellulosique contient une quantité importante qui peut être transformée en bioéthanol. Un cocktail enzymatique également varié appelé hémicellulase, est nécessaire pour son hydrolyse. Ce cocktail est constitué par les enzymes suivants : endoxylanase, exoxyylanase, β -xylosidase, α -arabinofuranosidase et acetyl-xylane-estérase [43].

I.6.1.5 Hydrolyse et fermentation séparée (HSF)

Dans ce procédé, les réactions d'hydrolyse et de fermentation sont effectuées dans deux réacteurs distincts et en deux temps [44]. Ce procédé a l'avantage de proposer des conditions optimales de travail pour l'hydrolyse et pour la fermentation. En effet, les températures optimales pour les deux étapes sont différentes, elle est de 45 à 50°C pour la cellulase (hydrolyse) et de 30 à 37°C pour les microorganismes qui produisent l'éthanol (fermentation) [66]. Mais ce procédé présente aussi des inconvénients, comme, l'inhibition de la cellulase par la cellulose et le glucose [44-45].

I.6.1.6 Saccharification et Fermentation Simultanée (SSF)

Ce procédé est le plus utilisé. Il consiste à effectuer les deux étapes d'hydrolyse enzymatique et de fermentation éthanoïque, dans un même réacteur et en même temps. Il présente plusieurs avantages, coûts d'investissement moindre par rapport au précédent présenté (un seul réacteur), les sucres sont fermentés immédiatement après leur production, les risques d'inhibition des enzymes par les produits terminaux d'hydrolyse (glucose et cellobiose) ainsi que les risques de contamination sont donc réduits [46].

L'Hydrolyse et la Fermentation Séparée (HSF) et Saccharification et Fermentation Simultanée (SSF) sont les deux configurations principales des procédés pour la production de bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique. Globalement, le procédé de saccharification et fermentation simultanée est réputé être meilleur que le procédé d'hydrolyse et fermentation séparé tant pour le rendement que pour la concentration en éthanol obtenue [47]. Rana et al (2014) ont aussi comparé ces deux procédés en utilisant deux substrats différents et ont conclu que quels que soient les conditions et le substrat, le rendement en éthanol est meilleur pour le procédé SSF par rapport au procédé HSF. Le

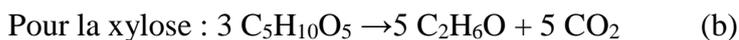
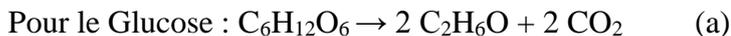
tableau suivant représente quelque prétraitement avec le procédé de fermentation SSF [48].

Tableau 1.4 : prétraitement avec biomasse lignocellulosique

Biomasse	Prétraitement	Procédé de fermentation
déchets alimentaires	Ondes à Ultrason et hydrolyse acide	Saccharification et fermentation simultanées SSF 35°C-38°C pendant 48h
-déchets de mandarin. -écorces de banane	Explosion à la vapeur	SSF pendant 15h
Les déchets de papier	Ondes à Ultrason	SSF

I.6.2 La fermentation

La fermentation est un processus biologique catalysé par des enzymes sécrétées par des microorganismes qui transforment les sucres simples en molécules plus petites telles que les acides et alcools [49]. La fermentation en éthanol des deux sucres les plus répandus se fait selon les deux réactions suivantes :



Il existe un grand nombre de bactéries et de levures qui sont capables de fermenter ces sucres qui sont nécessaires à leurs métabolismes et leur reproduction. *Saccharomyces cerevisiae* et *Zymomonas mobilis* sont les deux espèces actuellement utilisées à l'échelle industrielle pour la production d'éthanol [49].

Saccharomyces cerevisiae est l'espèce la plus utilisée et étudiée pour la production du bioéthanol car elle est robuste et adaptée à la fermentation du glucose issu de l'hydrolyse de la biomasse lignocellulosique. Cependant, elle n'est pas capable de fermenter les pentoses issus de l'hydrolyse des hémicelluloses, leurs fermentation nécessite donc d'autres microorganismes fermentaires [49]. D'autre part, des paramètres physicochimiques tels que le pH et la température influent sur la fermentation [50]. Ainsi, la température optimale de production d'éthanol pour *Saccharomyces cerevisiae* est de 33°C [51]. En ce qui concerne le pH, la production d'éthanol optimale se situe entre 4,0 et 4,8 [52].

I.6.3 Distillation

La première étape de récupération de l'éthanol est la distillation. Cette opération de séparation, basée sur la volatilité de l'alcool, Cependant, l'éthanol n'est pas le seul élément volatil présent dans le moût fermenté. D'autres composés sont volatilisés lors de la distillation: des alcools, des acides gras, des éthers mais aussi de l'eau et du CO₂. L'ensemble de ces composés va se retrouver dans la phase gazeuse avec l'éthanol [53,54].

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

II.1 Objectif

L'objectif de ce travail consiste à la production d'un biocarburant « Bioéthanol » à partir d'une biomasse lignocellulosique "déchet organique des restaurants". Le procédé de conversion des déchets organiques en bioéthanol est subdivisé en cinq parties principales : préparation des déchets organiques (hydrolyse acide diluée, ondes à ultrason et prétraitement enzymatique) suivi par l'étape de saccharification et fermentation simultanée et à la fin la distillation pour la récupération du bioéthanol.

II.2 Présentation de la Biomasse étudiée : DECHET ALIMENTAIRE

Le déchet alimentaire (FOOD WASTE) est une décharge de déchets organiques provenant de diverses sources, par exemple, les ménages, les cafétérias, les restaurants etc.... Près de 1,3 milliard de tonnes de nourriture sont gaspillées tout au long de la chaîne d'approvisionnement alimentaire.

Étant donné sa nature riche en matières organiques, FW devrait être considéré comme une ressource utile pour produire du bioéthanol [55].



Figure 2.1 : déchet organique du restaurant

II.3 Préparation du déchet organique

Cette étape repose sur le séchage de déchet organique à l'air libre, ensuite broyage à l'aide d'un broyeur à des fines. Finalement, la matière stockée dans un milieu sec à l'abri de la lumière.

II.4 Réactifs

Les réactifs utilisés dans le procédé de la production du bioéthanol sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 2.1 : Les Réactifs utilisés

Réactifs	Origine
NaOH	Panreac, Espagne
HI(36,5-38%)	Sigma Aldrich, France
H ₂ SO ₄ (95-97%)	Sigma Aldrich, France
Cellulase	Sigma Aldrich, France
Hémicellulase	Sigma Aldrich, France
Extrait de levure	Biochem, France
Extrait de malt	Biochem, France
Levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Industrielle
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 96 %	Panreac, Espagne
Acétone	Prolabo ,USA
Acide acétique	Sigma Aldrich, France
Toluène	Panreac, Espagne

II.5 Caractérisation de la matière première

II.5.1 Taux d'humidité

C'est le rapport exprimé en pourcentage du poids de l'eau contenu dans le déchet au poids du même matériau sec. Il a été déterminé selon la norme (NF M 03-002) [56].

Mode opératoire

Une masse de 5g de déchet a été introduite dans un verre de montre (m₀), ensuite placer dans une étuve à 105 °C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Le taux d'humidité est donné par la relation suivante :

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

II.5.2 Taux de cendre

Il permet de connaître la part des matières organiques qui rentre dans la composition de déchet organique. Le taux de cendre à été déterminé selon la norme (NF M 03-002)[56].

Mode opératoire

Une masse de 5g de déchet est séchée 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. 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 :

$$C\% = \frac{p_0 - p_1}{p_0} * 100 \quad (\text{Eq2})$$

Tel que :

P0 : Le poids du creuset remplis avant carbonisation en (g).

P1 : Le poids du creuset remplis après carbonisation en (g).

II.5.3 Teneur de la cellulose et l'hémicellulose

But

Ce procédé permet de déterminer la quantité de cellulose et de l'hémicellulose dans la 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) obtenus précédemment ont été neutralisés par l'acide acétique concentré, puis mélangés avec de l'éthanol et laissé pendant une nuit. La solution obtenue met dans la centrifugeuse 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. Après, 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. [57]

II.5.6 Teneur de la lignine

But

Ce procédé permet de déterminer le taux de la lignine dans la biomasse. A partir du protocole d'analyse de la lignine de l'AOAC « Official Methods of Analysis » approuvé par l'association analytique des chimistes de même que celui publié dans « Methods of Wood Chemistry » de Browning [58], il est possible de réaliser l'extraction de la lignine de Klason qui repose sur deux étapes essentielles, extraction des extractibles au soxhlet ensuite traitement avec l'acide sulfurique.

Mode opératoire

Une masse de 5 g de la matière sèche a été traitée avec un mélange de l'ordre de 66,7 % de toluène et 33,3 % en éthanol. La durée de cette étape nécessite un temps minimal de quatre heures avec un procédé de reflux en continu. Les solvants solubilisent les extractibles contenus dans la matière organique et ceux-ci sont finalement concentrés dans le ballon de récupération. Le résidu récupéré a été séché à l'étuve à une température constante [58], puis il a été traité par l'acide sulfurique 72% avec un volume de 7,5 ml sous agitation constante afin de séparer l'holocellulose de la lignine. Nous obtenons à la fin une solution gélatineuse de couleur noire. Ensuite, on complète la réaction par un chauffage à reflux pendant quatre heures avec du H₂SO₄ dilué à 3% [59]. Après extraction des extractibles, une masse de 1g du résidu est séchée à l'étuve jusqu'à stabilisation de la masse, placé ensuite dans un dessiccateur jusqu'à son refroidissement, la masse est pesée à la fin et notée G3. Après, 30ml de la solution d'acide sulfurique (72%) a été ajouté doucement dans le flacon. Le mélange est conservé entre 8 et 15°C pendant 24h, puis il a été introduit dans un flacon de 300ml d'eau distillée et bouilli pendant 1h avec un mélange d'eau distillée recyclée. Le mélange a été refroidi et filtré jusqu'à disparition des ions sulfate (détection des ions sulfate par 10% de chlorure de baryum dans la solution). Le résidu est ensuite séché à l'étuve à 105°C jusqu'à stabilisation de la masse, placé dans un dessiccateur jusqu'à refroidir, la masse qu'on obtient elle a été pesée et notée G4. Le taux de lignines obtenu est déterminé selon la formule suivante :

$$w3(\%) = \frac{g4(1-w1)}{g3} * 100 \quad (\text{Eq3})$$

II.6 PRODUCTION DU BIOETHANOL

La production de bioéthanol a été réalisée par en adoptant différents prétraitement de la biomasse étudiée selon les étapes suivantes :

II.6.1 Hydrolyse acide diluée

Dans cette étape, une masse de 100g de déchet organique des restaurants humide rincée préalablement a été introduite dans une solution de l'acide sulfurique(H_2SO_4)(0,5M) . Ensuite, la solution a été placée dans un montage à reflux à une température comprise entre 110°C pendant 30 min. Après refroidissement à l'air libre pendant 15 min, la solution a été rincée avec de l'eau trois fois et par l'eau distillée deux fois, ensuite le substrat a été récupéré par filtration [60,61], suivi par une étape de la saccharification et fermentation simultanée(SSF).

II.6.2 Prétraitement assisté aux ondes ultrasons

Dans cette étape le substrat a été rincé avec de l'eau distillée. Par la suite, 100g de biomasse humide a été mélangée avec de l'eau distillée, cette solution a été muni par un bain glacée lors de traitement par les ondes à ultrasons afin d'éviter le surchauffe. Les conditions opératoires réglée dans le bain à ultrason de type "Raypa" sont : $f= 40$ KHz et $T=40$ °C, et une durée de 5-30min. Après prétraitement, le substrat a été récupéré par filtration [62,63], suivi par une étape de la saccharification et fermentation simultanée (SSF).



Figure 2.2 : Bain à ultrasons

II.6.2.1 Prétraitement par l'enzyme suivi par un prétraitement assisté par les ondes ultrason suivi par saccharification et fermentation simultanée (SSF)

Après avoir rincé le substrat avec de l'eau distillé, 100g de la biomasse humide est mélangée avec 200ml de l'eau distillée, ensuite 0.5 % (P/P) des enzymes (cellulase et hémicellulase) sont ajoutés. Après agitation, une solution d'acide citrique 0.1% est ajoutée pour corriger le pH jusqu'à l'obtention d'un pH égale à 5, ce mélange est placé dans l'étuve pendant 1,5 heure à température égale à 45 °C suivi par une incubation pendant 1 heure. Ensuite, le mélange prétraité avec l'enzyme est placé dans le bain ultrason pendant 30min, suivi par une étape de la saccharification et fermentation simultanée (SSF).

II.6.2.2 Prétraitement par l'enzyme suivi par prétraitement par les ondes à ultrason suivi par fermentation

100 g du substrat a été traité par l'enzyme dans les mêmes conditions opératoires de l'étape précédant, par la suite le mélange a été traité par les ondes à ultrason suivi directement par fermentation par la levure.

II.6.3 Correction de pH

Après prétraitement, le pH doit être corrigée par une solution de NaOH (5M) jusqu'à atteindre un pH égale à 4,8 afin d'éliminer les inhibiteurs de la fermentation comme le furfural et l'hydroxyméthylfurfural. [64]

II.6.4 Saccharification et Fermentation Simultanée (SSF)

Les deux étapes d'hydrolyse enzymatique et de fermentation ont été effectuées en une seule fois dans un réacteur stérilisé. Deux enzymes ont été utilisés dans cette étape : la cellulase et l'hémicellulase avec un rapport de 0,5%. Une souche de *Saccharomyces cerevisiae* a été utilisée dans cette étape, cultivée dans un milieu stérile dans un autoclave à 120°C pendant une durée de 20 min composé de : 0,5 g extrait de levure, 20 g extrait de malt, 2 g ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 6 g de $(NH_4)_2SO_4$, 0,5 g de KH_2PO_4 et 0,1 g $CaCl_2$, 1 g(**Annexe I**) La saccharification a été réalisée sous les conditions opératoires suivantes : T =37°C, pH= 4,8 et une vitesse d'agitation de 500 tr/min pendant une durée de 72 h [65-66].

Au cours de la fermentation nous avons suivi :

- Le pH
- La teneur des sucres totaux.
- La teneur des sucres réducteurs.

II.6.4.1 Mesure du pH

La détermination du pH est essentielle pour le contrôle du milieu, avant et au cours de la fermentation. Sa variation montre l'activité métabolique de la levure au cours de la transformation des sucres en éthanol.

Mode opératoire

Le pH a été mesuré par une lecture directe de la valeur indiquée sur le pH-mètre de la marque (HANNA HI 2210) après chaque prélèvement au cours de la fermentation. Un volume de 10 ml du milieu de fermentation a été prélevé, ensuite centrifugé à une vitesse de 10000tr/min pendant 15 min afin de séparer la phase liquide de la phase solide.

II.6.4.2 Mesure des sucres totaux par la méthode de Dubois

La méthode de Dubois peut détecter les quantités des sucres totaux dans le milieu réactionnel au cours de la fermentation.

Principe

En effet, en milieu acide et à chaud, les oses neutres donnent des dérivés du furfural (l'hydroxyméthylfurfural dans le cas d'un hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose), ces dérivés se condensent avec le phénol pour donner un complexe de couleur jaune brun. Les termes « Sucres totaux » ou « oses neutres » sont utilisés pour désigner les monosaccharides neutres entrant dans la composition des polysaccharides. La couleur varie selon le taux des sucres totaux présentés dans le milieu de réaction. L'absorbance est lue à la longueur d'onde 490 nm par spectrophotomètre (**Annexe II**) [67,68].

Mode opératoire

Dans une série de tube à essai, un volume de 1 ml de 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, ensuite ils ont été placés dans un bain marie à une température de 30°C pendant

20 minutes. Enfin les tubes ont été agités pendant 10 à 20 min. L'absorbance est lue à la longueur d'onde 490 nm par un spectrophotomètre UV de type "SHIMADZU UV-1800, Japon".

II.6.4.3 Mesure des sucres réducteurs par la méthode de Miller

La méthode de Miller peut détecter les quantités des sucres réducteurs (glucose) dans le milieu réactionnel au cours de la fermentation.

Principe

On utilise les propriétés réductrices du glucose. À chaud et en milieu alcalin, il y a réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique ou DNS (aussi appelé acide 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoïque) qui joue le rôle d'oxydant, le glucose étant le réducteur. L'acide 3-amino-5-nitrosalicylique est un composé rouge orange. L'intensité de la coloration rouge est proportionnelle à la concentration de l'ose si l'on opère dans des conditions physicochimiques constantes. L'absorbance est mesurée à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre [69,70].

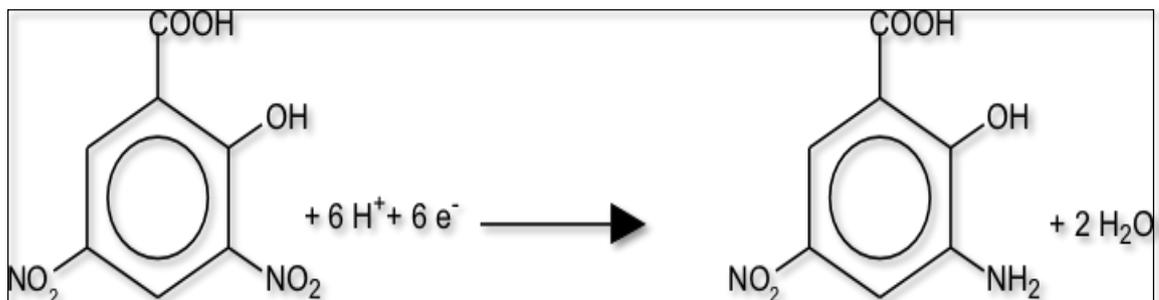


Figure 2.3 : Réaction de réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique en acide 3-amino- 5-nitrosalicylique

Mode opératoire

Dans une série de tube à essai, un volume de 1 ml de milieu de fermentation a été introduit après chaque prélèvement. Par la suite un volume de 1 ml réactif (DNSA) a été rajouté à cette solution. Les tubes sont chauffés dans un bain bouillant pendant 5 minutes. Après chauffage, les tubes sont directement placés dans la glace fondante pour désactiver la réaction entre les sucres et le DNSA. L'absorbance est lue 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.

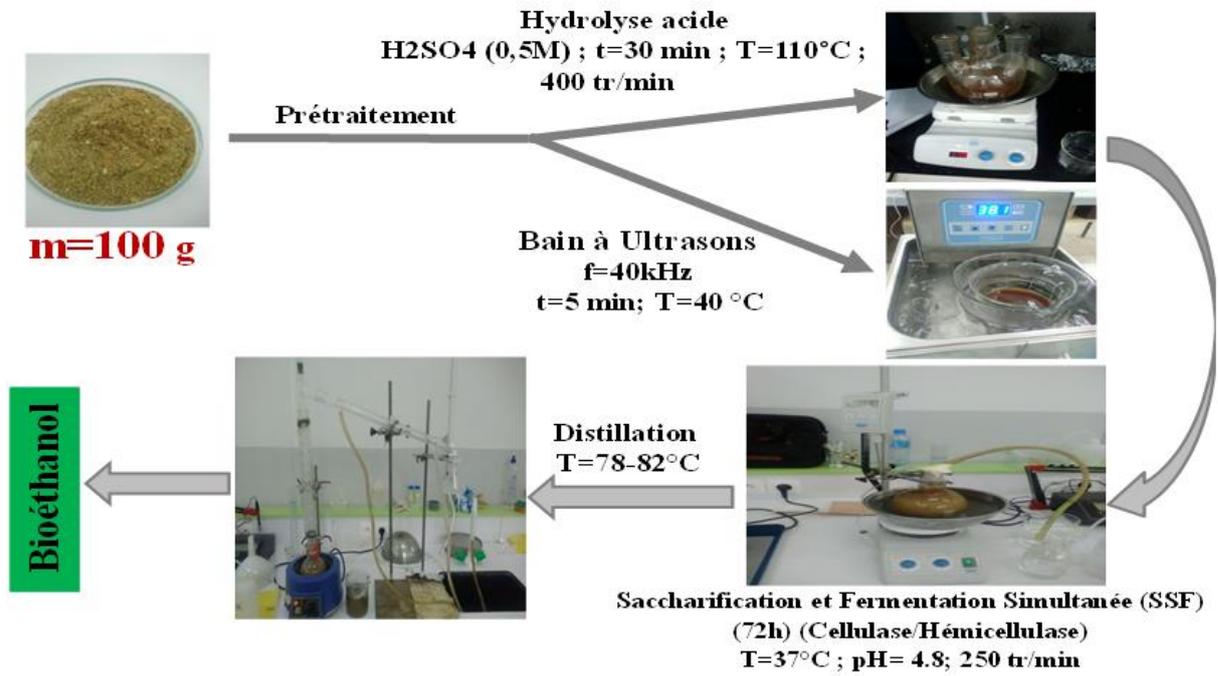


Figure 2.4 : Schéma descriptive représente les étapes de la production de bioéthanol par l'hydrolyse acide et onde ultrason.

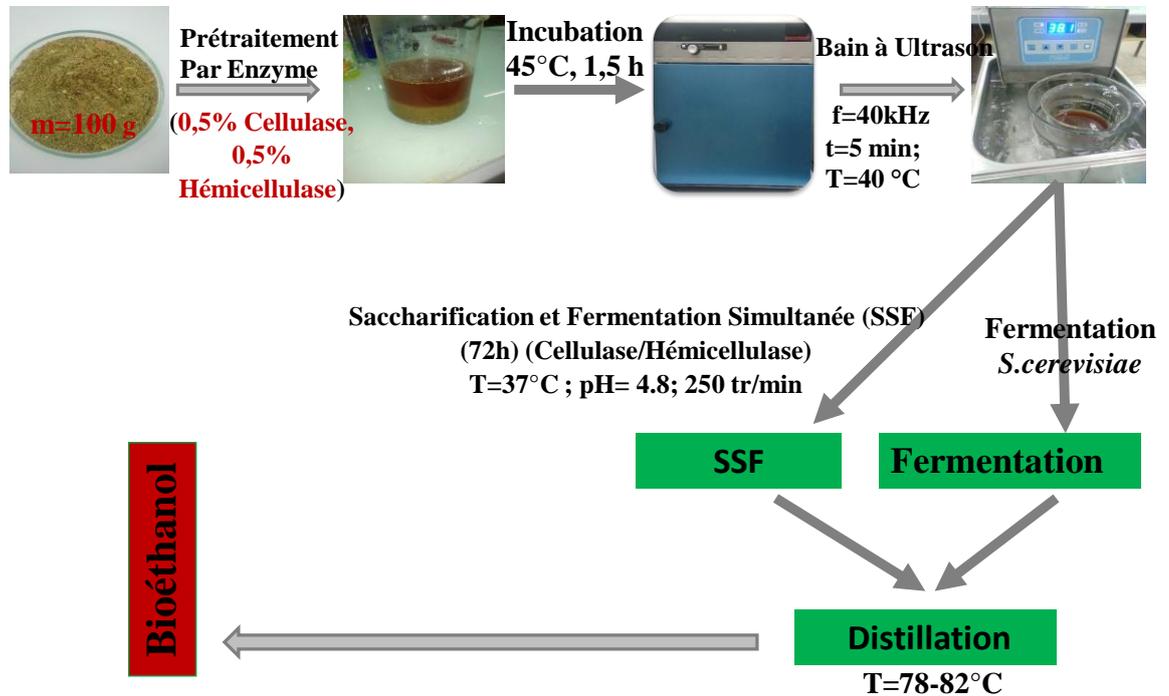


Figure 2.5 : Schéma descriptive représente les différentes étapes de la production de bioéthanol par le procédé de prétraitement enzymatique

II.6.5 Distillation

A la fin de fermentation, l'éthanol est récupéré à l'aide du montage de distillation, la température de distillation est entre 78 à 80°C.

II.6.6 Caractérisation de bioéthanol

II.6.6.1 Mesure de la densité

La densité de l'éthanol est le rapport de la masse volumique de cet éthanol par la masse volumique de l'eau. Cette mesure a été faite à l'aide d'un densimètre électronique de type "METTLER TOLEDO 30PX".

II.6.6.2 Analyse qualitative de bioéthanol par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse a été réalisée à l'aide d'un chromatographe GC- 17A. La quantité injectée est 0,1 µl.

Les conditions opératoires de l'analyse par CPG sont :

- Colonne OV17
- Type de détecteur : FID
- Débit 12 ml/min
- Pression : 54 m pascal
- Température de la colonne : 85 °C
- Température de l'injecteur : 200°C
- Température de détecteur : 220° C

II.6.6.3 Analyse quantitative du bioéthanol par densimètre

Cette analyse permet de déterminer La concentration de bioéthanol (fraction massique et fraction molaire) à l'aide d'un densimètre électronique. La concentration a été mesurée dans le mélange eau-bioéthanol. [71]

CHAPITRE III

RESULTAT ET DISCUSSION

III.1 Caractérisation de la biomasse étudiée

Les résultats de la caractérisation de la biomasse sont représentés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 3.1: Caractérisation de la matière première

Paramètre	Masse initiale (g)	Masse finale (g)	Taux (%)
Humidité	5	4,62	7,6
Cendre	21,84	17,22	21,15
Cellulose	-	-	50,00
Hémicelluloses	-	-	30,00
Lignine	-	-	18,60

Les résultats du tableau montrent que la cellulose présente la teneur la plus élevée comparativement à l'hémicellulose et la lignine. Ces résultats obtenus sont proches et comparables à d'autres résultats des travaux déjà réalisés sur le déchet agroalimentaire (Cellulose 47%, les hémicelluloses 25%, et la lignine 20%) [72,73].

III.2 Résultats des paramètres suivis lors de procédé de production de bioéthanol

Dans ce travail, nous avons étudié l'effet du prétraitement de la biomasse (l'hydrolyse enzymatique, l'effet des ondes ultrasonores et l'effet du prétraitement enzymatique en utilisant les enzymes cellulase et hémicellulase) sur la récupération du bioéthanol d'une part et sur l'évolution du pH, les sucres totaux et réducteurs au cours de la fermentation d'autre part.

III.2.1 Evolution du pH au cours de la fermentation alcoolique, des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le prétraitement par l'hydrolyse acide diluée suivi par SSF

Au cours de la fermentation alcoolique, le métabolisme de la levure induit un changement perpétuel du milieu. Ainsi, la consommation des substrats carbonés et azotés s'accompagne de la production de métabolites acides ou alcools.[74] Les résultats sont présentés dans les figures suivantes.

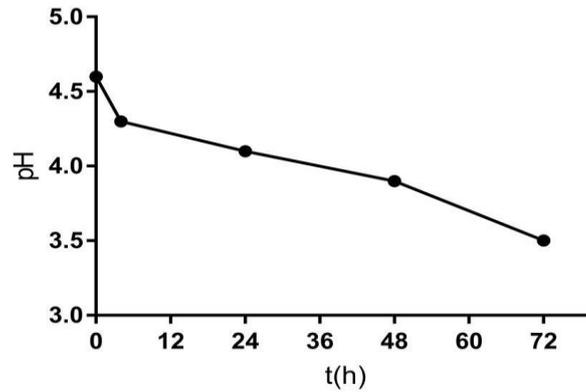


Figure 3.1 : Cinétique de pH

Pendant la fermentation alcoolique, l'évolution classique du pH présente une diminution du pH jusqu'à l'arrêt de la fermentation présente une diminution du pH jusqu'à l'arrêt de la fermentation c. Nous avons remarqué qu'après 72 heures de fermentation, le pH a été diminué de 4,57 jusqu'à 4,17. Cette diminution est due à l'activité métabolique de la levure *Saccharomyces cerevisiae* et le dégagement de CO₂ produisant du bioéthanol ; [74].

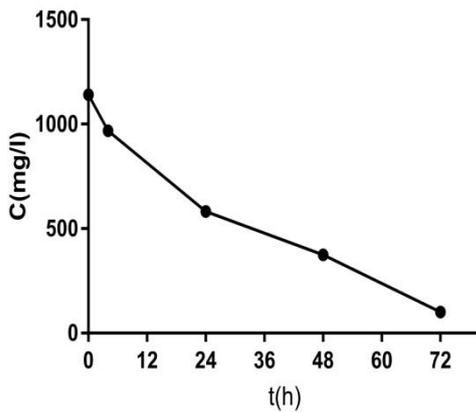


Figure 3.2 : Cinétique des sucres totaux

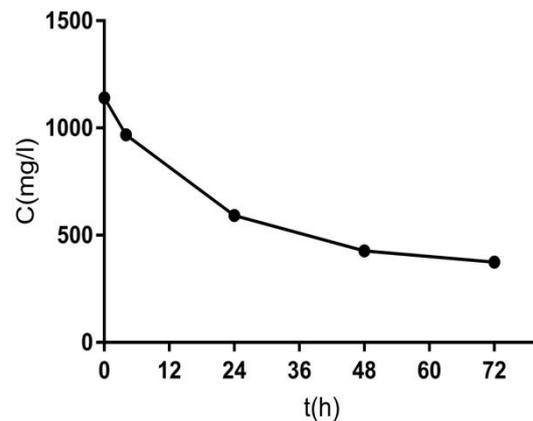


Figure 3.3: Cinétique des sucres réducteurs

Les deux courbes des sucres totaux et des sucres réducteurs ont montrées qu'il y avait une consommation des sucres fermentescibles par la levure *Saccharomyces cerevisiae* qui a été multipliée pour produire de bioéthanol durant les 72 heures de fermentation pour le

procédé de l'hydrolyse acide diluée suivi par SSF. La concentration des sucres totaux finale est de 0,12 g/L et la concentration des sucres réducteurs finale est de 0,375 g/L. Cela montre que la majorité des carbohydrates libérés par les enzymes cellulase et l'hémicellulase ont été consommés par la levure durant la fermentation [75].

III.2.2 Cinétique du pH, des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le prétraitement de la biomasse assisté par les ondes ultrasons suivie par SSF

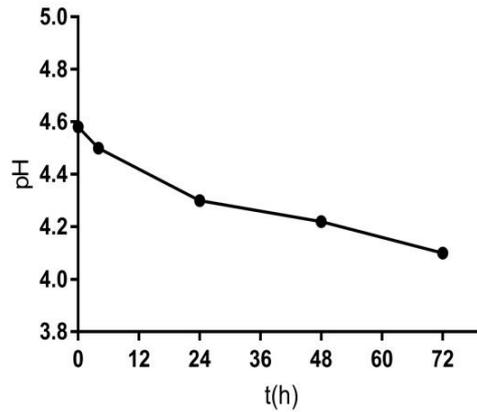


Figure 3.4 : Cinétique de pH

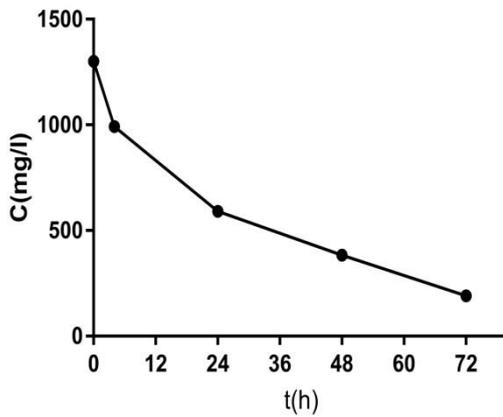


Figure 3.5 : Cinétique des sucres totaux

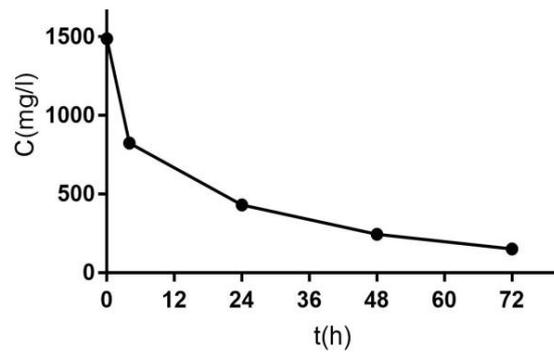


Figure 3.6 : Cinétique des sucres réducteurs

Les résultats des deux figures montrent que la concentration des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le procédé de prétraitement utilisant les ondes ultrasons suivi par SSF diminuent en fonction du temps, au cours de la fermentation. Cela signifie que les sucres ont été consommés complètement par la levure, pour produire et synthétiser le bioéthanol

jusqu'à atteindre une concentration finale égale à 0,19 g/L pour les sucres totaux, et une concentration égale de 0,15 g/L pour les sucres réducteurs après 72 heures de fermentation. En comparant ces résultats avec ceux du prétraitement de la biomasse avec l'hydrolyse acide diluée, on remarque que la teneur finale en sucre réducteurs est très faible pour la biomasse traitée avec les ultrasons. Les ultrasons sont des ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide. La propagation des ondes sonores dans les liquides soumis aux ultrasons induit en alternance des cycles de haute pression (compression) et des cycles de basse pression. Les séries de ces cycles créent une pression acoustique. Au cours du cycle de basse pression, les ondes ultrasonores créent des petites bulles de cavitation dans le liquide. Lorsque ces bulles atteignent un volume pour lequel elles ne peuvent plus absorber de l'énergie, elles éclatent violemment au cours d'un cycle de haute pression. Les effets sono chimiques de ces cavitations se traduisent entre autres par des accélérations de cinétique et/ou d'amélioration du rendement d'extraction solide-liquide [76]

III.2.3 Cinétique du pH, des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le procédé du prétraitement par enzyme-ondes à ultrasons suivi par SSF

La réaction des enzymes est souvent considérée comme une alternative à la destruction thermo-mécanique des parois cellulaire [77] les résultats sont présentés dans les figures suivantes.

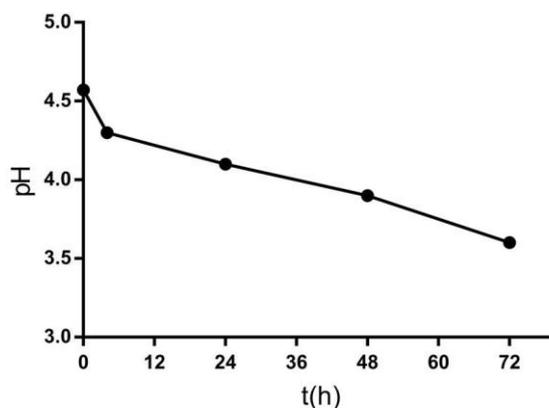


Figure 3.7: Cinétique du pH

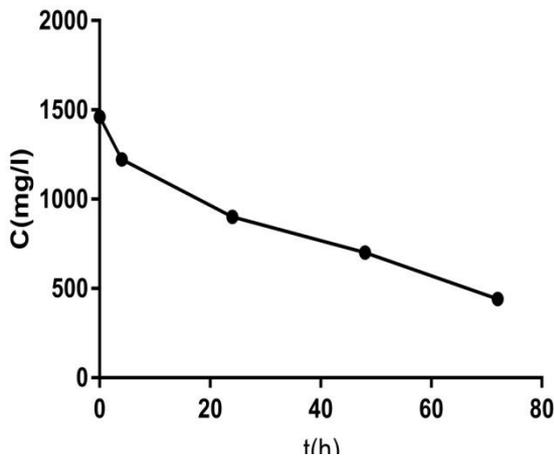


Figure 3.8 : Cinétique des sucres totaux

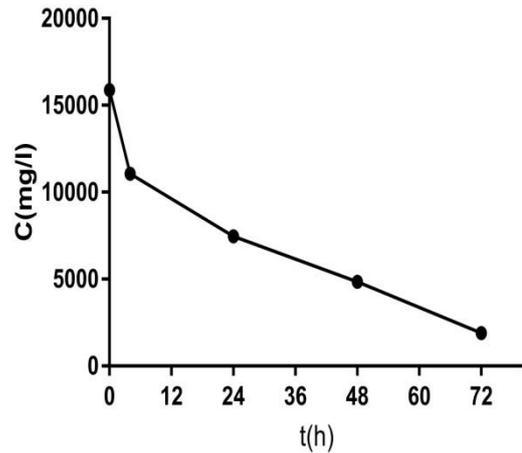


Figure 3.9: Cinétique des sucres réducteurs

L'examen des deux figures montre que dans un premier temps, le prétraitement enzymatique avec la cellulase et l'hémicellulase, assisté par les ondes ultrasons a permis d'obtenir une concentration des sucres monomères de 1300 mg/L et une évolution importante des sucres au cours de la fermentation, où on a enregistré une diminution de sucres totaux de l'ordre de 33,4% et de 12,5 % pour la teneur en sucres réducteurs. L'observation de la figure montre que après 72 h de fermentation, une dégradation importante des sucres est révélée.

III.2.4 Cinétique du pH, des sucres totaux et des sucres réducteurs pour le prétraitement par enzyme-ondes à ultrason et fermentation

Les figures suivantes montrent que la teneur des sucres totaux et des sucres réducteurs diminuent en fonction du temps au cours de 72 heures de fermentation. On remarque aussi qu'à la fin de la fermentation le pourcentage du sucre est faible, d'où on pourra conclure que la dégradation des sucres réducteurs au cours de l'étape de fermentation est presque totale.

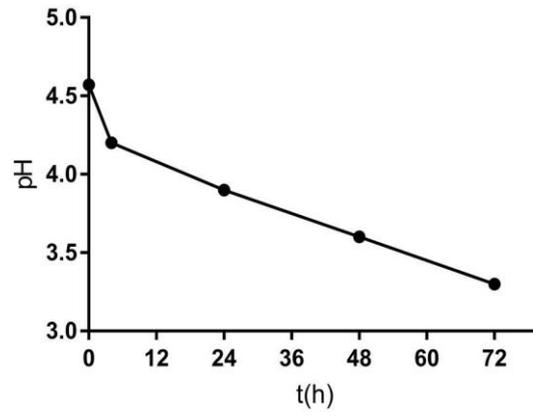


Figure 3.10 : Cinétique du pH

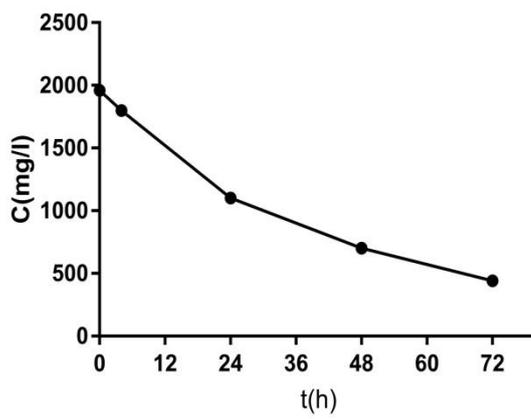


Figure 3.11: Cinétique des sucres totaux

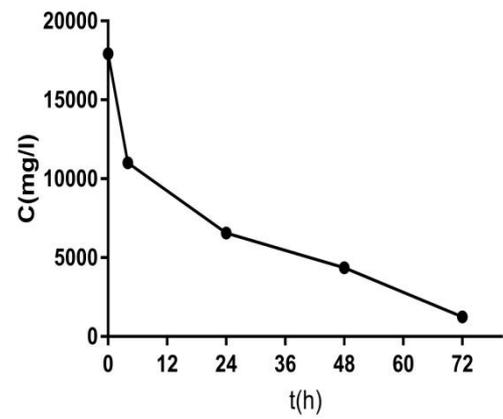


Figure 3.12: Cinétique des sucres réducteurs

III.2.5 Mesure de la densité

Les résultats de la densité sont présentés dans les tableaux suivant :

Tableau 3.2 : Mesure de la densité de bioéthanol

Procédé	Densité de Bioéthanol obtenu (T=21,5°C)	
	bioéthanol distillé	bioéthanol bidistillé
Hydrolyse acide diluée	0,987	0,975
Ondes à ultrason	0,991	0,982
Prétraitement par enzymes et ondes à ultrason et SSF	0,947	0,852
Prétraitement par enzymes et ondes à ultrason et fermentation	0,962	0,898
éthanol 96%	0,820	

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 des différents produits de bioéthanol obtenues après une deuxième distillation (0,975, 0,982, 0,852 et 0,898). Ces valeurs sont proches de la densité de l'éthanol 96% (d= 0,820)

III.2.6 ANALYSE QUALITATIVE DU BIOETHANOL PAR CPG

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

L'éthanol 96% ($t_R=2,527$)

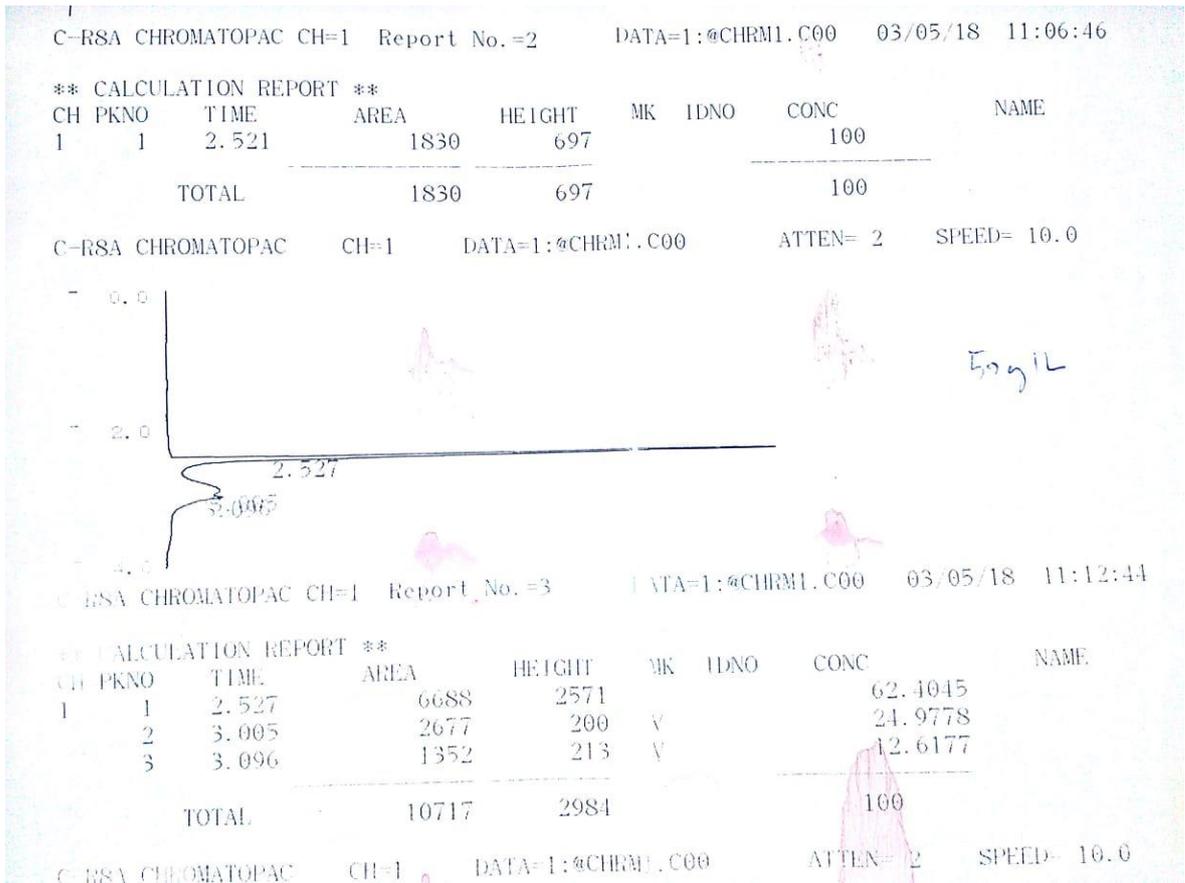


Figure 3.13 : Chromatogramme de l'éthanol 96%.

Bioéthanol de déchet alimentaire par l'hydrolyse acide diluée ($t_R=2,525$)

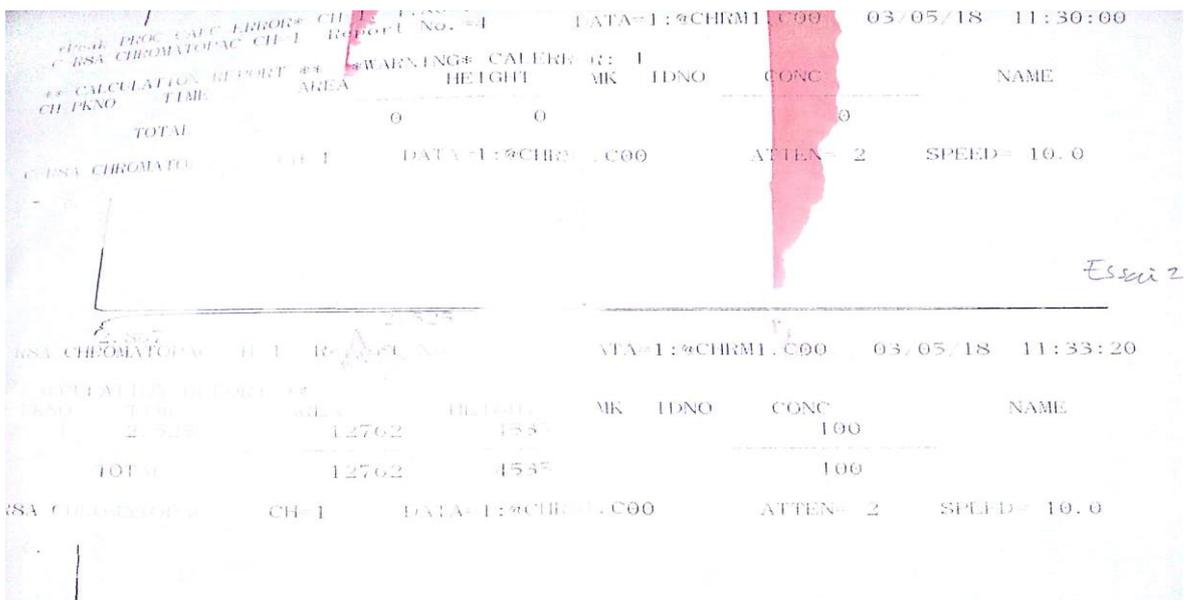


Figure 3.14: Chromatogramme de bioéthanol par l'hydrolyse acide diluée

Bioéthanol de déchet alimentaire par les ondes à ultrasons ($t_R=2,515$)

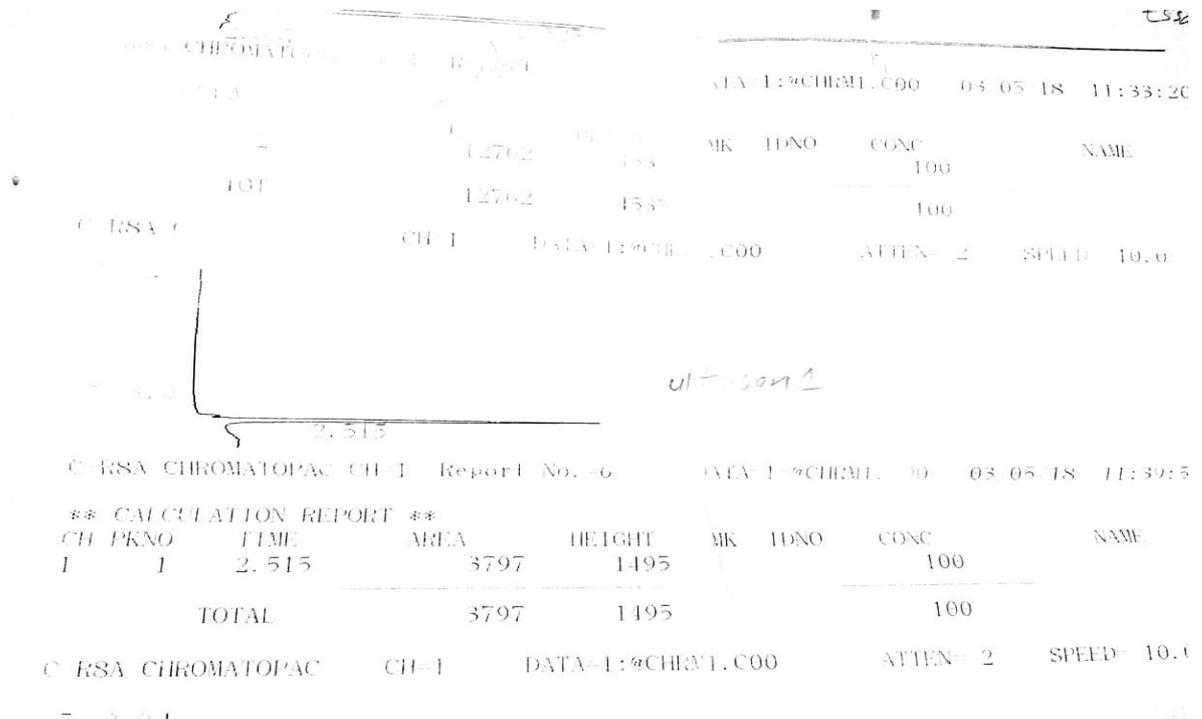


Figure 3.15 : Chromatogramme de bioéthanol par les ondes à ultrasons

L'identification du bioéthanol s'effectue en le comparant l'indice de rétention du chromatogramme de l'éthanol pur (96%) dans les mêmes conditions d'analyse. L'observation des chromatogrammes montre que le temps de rétention de l'éthanol pure (2,527) est quasi proche du bioéthanol synthétisé à partir du déchet alimentaire par l'hydrolyse acide diluée (2,525) et par les ondes à ultrasons (2,515).

III.2.7 Analyse quantitative de bioéthanol par densimètre

Tableau 3.3 : Analyse quantitative de bioéthanol par densimètre

Procédé	Conditions opératoires	Concentration des sucres réducteurs (mg/L)		Concentration (g/L)	
		Initiale	finale	Distillé	Bidistillé
Hydrolyse acide diluée-SSF	H ₂ SO ₄ (0,5M) ; T=110°C ; t=30min ; 0,5% (cellulase/hémicellulase)	1141	374	6,00	16,00
Ondes à ultrason- SSF	F=40KHz ; T=40°C ; t=30 min SSF : 0,5% (cellulase/hémicellulase) pH _{int} =4,8 ; T=37°C	1400	150	14,1	28,8
Prétraitement par enzymes-ondes à ultrason et SSF	0,5% (cellulase/hémicellulase) T _{enzymes} =45°C sous incubation pendant 1,5h (F=40 KHz ; t=30 min ; T=40°C) 0,5% (cellulase/hémicellulase)	17933	1249	33,6	75,5
Prétraitement par enzymes-ondes à ultrason et fermentation	0,5% (cellulase/hémicellulase) T _{enzyme} =45°C sous incubation pendant 1,5h (F=40 KHz ; t=30min ; T=40°C) Fermentation : pH _{int} =4,8 ; T=37°C	15880	1900	23,5	55

L'examen des résultats montre que les concentrations massiques obtenues sont très élevées à cause de l'effectuation d'une opération de bidistillation. Nous remarquons que le procédé de prétraitement par enzymes et ondes à ultrason suivie par la saccharification et la fermentation simultanée (SSF) a permis d'obtenir la meilleure concentration (75,5 g/L). Le prétraitement renforcé par les enzymes cellulase et l'hémicellulase et les ondes à ultrasons a permis non seulement la bonne séparation des trois structures lignocellulosiques, ainsi que une libération de 17,93 g/L des sucres monomères fermentescibles. Cette méthode est plus au moins économique mais aussi plus environnementale puisque nous utilisant les enzymes comme matière première. Par contre ces résultats ont été plus comparables aux d'autres travaux effectuées comme le représente le tableau suivant :

Tableau 3.4 : travaux des travaux sur déchet agroalimentaire

Prétraitement Biologique	biomasse	Microorganismes	Temps de la fermentation (heures)	Concentration de bioéthanol (g/L)
glucoamylase, α -amylase, cellulose, xylanase, hémicellulase, arabinase, β -glucanase	déchet agroalimentaire	<i>S.coreanus et Pichia stipilis</i>	72	49 [78]
glucoamylase, α -amylase, cellulose	déchet agroalimentaire	<i>S.cerevisiae</i>	72	82 [79]

CONCLUSION

L'amélioration de la digestibilité de la biomasse lignocellulosique en milieu anaérobie Pour la production de bioéthanol est une des voies pour la substitution des ressources fossiles. Le choix s'est porté sur le déchet alimentaire qui est une biomasse disponible et en grande quantité.

L'objectif visé par notre travail est de développer un bioéthanol à partir des dérivés d'une biomasse lignocellulosique (déchet alimentaires), nous avons étudié l'impact des différents prétraitements de la biomasse lignocellulosique , l'hydrolyse acide diluée suivi par saccharification et fermentation simultanée (SSF), Enzyme suivi par prétraitement des ondes à Ultrasons suivi par (SSF) ,Enzyme suivi par les ondes à ultrasons suivi par fermentation ,prétraitement par onde à ultrason, qui permet les sucres de se fermenter immédiatement après leur production en présence de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Lors de cette étude, une libération des sucres totaux (1,14 g/L) est obtenue par L'hydrolyse acide diluée suivie par (SSF) et (1,46 g/l) pour Enzyme suivi par prétraitement des ondes à Ultrasons suivi par (SSF), Cela montre que la majorité des carbohydrates ont été consommées par la levure durant la fermentation.

L'évolution du pH présentait une diminution jusqu'à l'arrêt de la fermentation, pH=3,6 pour hydrolyse acide diluée suivi par SSF et pH=3,5 pour Enzyme suivi par prétraitement des ondes à Ultrasons suivi par SSF .cette variation du pH a montré une activité métabolique de la levure au cours de la transformation des sucres en alcool.

Une concentration en bioéthanol produit par le procédé SSF égale à 6 g/L pour l'hydrolyse acide diluée et égale à 75,5 g/L pour Enzyme suivi par prétraitement des ondes à Ultrasons.

D'après les résultats obtenus, la production de bioéthanol par la méthode de la saccharification et la fermentation simultanée (SSF) et le procédé de prétraitement par Enzyme suivi par prétraitement des ondes à Ultrasons sont les meilleurs procédés qui nous a donné un bon rendement en bioéthanol (70 %) , et en plus ce bioéthanol présente l'avantage d'être des produits 100 % bio, respecte l'environnement et ne porte pas atteinte à l'écologie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Scragg Alan.H « production de biocarburants, l'application et le développement», press 2009.
- [2] Isabelle Didderen ,Jacqueline Jestain , Philippe Thonartk « la production de bioethanol a partire de la biomasse lignocellulosique » foret wallonnen vol 104 janvier /fevrier 2010.
- [3]Pratima Bajpai, « Advances in Bioethanol » springerbriefs in applied sciences and technology, vol 2013 page 154.
- [4] Touati.L, « Valorisation des grignons d'olive étude de cas : Essai de valorisation en biocarburant » ; Thèse de magister ; Université M'hamed Bougara Boumerdès.2013.
- [5] Alvira P et al, « Bioresource Technology » (2010).
- [6] Gnansounou,E , A. Dauriat « Bioenergy and Energy Planning Research » Group BPE (2010).
- [7] Laurent P, Roiz J. & Wertz J, le bioraffinage une alternative prometteuse à la pétrochimie, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ, Belgique*, 597-610, 15-4-2011.
- [8]Jean Luc, « Document Farwwal avec le soutien de la région wallonen » 2010.
- [9] Lee J, « Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol » vol. 56, no 1, p. 1-24, juillet 1997.
- [10] D. Klemm, B. Heublein,Fink, H.-P et Bohn A. « Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material », *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, vol. 44, no 22, p. 3358-3393, mai 2005.
- [11] Xu A, Wang J, et Wang H « Effects of anionic structure and lithium salts addition on the dissolution of cellulose in 1-butyl-3-methylimidazolium-based ionic liquid solvent systems », *Green Chem.*, vol. 12, no 2, p. 268-275, févr. 2010.

- [12] Lavoine.N, Desloges.I, Dufresne..A, et Bras.J « Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review », *Carbohydr. Polym.*, vol. 90, no 2, p. 735-764, oct. 2012.
- [13] Nishiyama Y, Langan P, et Chanzy H « Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I β from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction » *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, no 31, p. 9074-9082, août 2002.
- [14] Bocek A. M., « Effect of Hydrogen Bonding on Cellulose Solubility in Aqueous and Nonaqueous Solvents », *Russ. J. Appl. Chem.*, vol. 76, no 11, p. 1711-1719, nov. 2003.
- [15] Satgé C, Granet R, Verneuil B, Branland.P et Krausz.P, « Synthesis and properties of biodegradable plastic films obtained by microwave-assisted cellulose acylation in homogeneous phase », *Comptes Rendus Chim.*, vol. 7, no 2, p. 135-142, févr. 2004.
- [16] Djerdjouri. N (1998) « Blanchiment et inhibition de la réversion par des agents réducteurs dérivés du phosphore » Mémoire Université du Québec à Trois-Rivières, pp. 11-12
- [17] Ren J.-L et Sun R.-C, « Chapter 4 - Hemicelluloses », in *Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels*, R.-C. Sun, Éd. Amsterdam: Elsevier, 2010, p. 73-130.
- [18] Buranov A. U et Mazza G « Lignin in straw of herbaceous crops », *Ind. Crops Prod.*, vol. 28, no 3, p. 237-259, nov. 2008.
- [19] Strassberger Z, Tanase S, et. Rothenberg G, « The pros and cons of lignin valorisation in an integrated biorefinery », *RSC Adv.*, vol. 4, no 48, p. 25310, 2014.
- [20] Cristobal Cara , Manuel Moya , Ignacio Ballesteros , Ma Jose Negro ,Alberto González , Encarnacio'n Ruiz « Influence de la charge solide sur l'hydrolyse enzymatique de la vapeur a explosé ou liquide de l'eau chaude un prétraitement de la biomasse des arbres d'olive »(2007)

[21] **M´arquez M.**, El fondo de estabilizaci3n de precios del petr3leo (FEPP) y el mercado de los derivados en Chile, Santiago de Chile: CEPAL, UN; (2000).

[22] **Sassner P., Galbe M., Zacchi G.** « Bioethanol production based on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated salix at high dry-matter content » *Enzyme Microb Technol* , 39 , (2006), pp.756–62.

[23] **Chen H., Jin S.** « Effect of ethanol and yeast on cellulase activity and hydrolysis of crystalline cellulose ». *Enzyme Microb Technol* , vol 39; pp.143–20, (2006)

[24] Sassner P, Galbe M, et Zacchi G, « Techno-economic evaluation of bioethanol production from three different lignocellulosic materials », *Biomass Bioenergy*, vol. 32, no 5, p. 422-430, mai 2008.

[25] Talebnia F, Karakashev D, et Angelidaki I, « Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation », *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no 13, p. 4744-4753, juill. 2010.

[26] Balat M, « Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review », *Energy Convers. Manag.*, vol. 52, no 2, p. 858-875, f3vr. 2011.

[27] Ballerini D, « Les Biocarburants » Editions OPHRYS

[28] Mosier N, Hendrickson R., Sedlak N. Ho, M, et. Ladisch M. R, « Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover », *Bioresour. Technol.*, vol. 96, no 18, p. 1986-1993, d3c. 2005.

[29] Pourquoi3, J. et Vandecasteele, J.P « Conversion de la biomasse lignocellulosique par hydrolyse enzymatique et fermentation ». *Biotechnologie*, 4e 3dition, Ren3 Scriban, Paris 1993, p 677-700.

- [30] Talebnia F, Karakashev D, et Angelidaki I, « Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation », *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no 13, p. 4744-4753, juill. 2010.
- [31] Prasad S, Singh A, et Joshi H. C, « Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues », *Resour. Conserv. Recycl.*, vol. 50, no 1, p. 1-39, mars 2007.
- [32] Zhang Y. et Chen H., « Multiscale modeling of biomass pretreatment for optimization of steam explosion conditions », *Chem. Eng. Sci.*, vol. 75, p. 177-182, 2012.
- [33] Balat M., « Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review », *Energy Convers. Manag.*, vol. 52, no 2, p. 858-875, févr. 2011.
- [34] Sun Y et Cheng J. J, « Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production », *Bioresour. Technol.*, vol. 96, no 14, p. 1599-1606, sept. 2005.
- [35] Chum, H.L., Douglas, L.J., Feinberg, D.A. et Schroeder, H.A. « Evaluation of Pretreatment of Biomass for Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. » National Renewable Energy Laboratory.1985
- [36] Paulina Leite a, José Manuel Salgado a,†, Armando Venâncio a, José Manuel Domínguez b, Isabel Belo « Ultrasounds pretreatment of olive pomace to improve xylanase and cellulase production by solid-state fermentation » *Bioresource Technology* vol 214 P 737–746,2016
- [37] Chemat F, Khan MK (2011) « Ultrasonics Sonochemistry Applications of ultrasound in food technology : Processing , preservation and extraction. Ultrason » *Sonochemistry* vol 835 2010
- [38] Svetlana Nikolic , Ljiljana Mojovic, Marica Rakin ,Dušanka Pejin , Jelena Pejin « Ultrasound-assisted production of bioethanol by simultaneous saccharification and fermentation of corn meal » *Food Chemistry* vol 122 (2010) p 216–222.
- [39] **Ye Sun, Jiayang Cheng.**, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review; *Bioresource Technology*, 83, (2002), pp.1-11.

- [40] Guibet J.-C. et. Chauvel A, « Utilisation de produits organiques oxygénés comme carburants et combustibles dans les moteurs » Editions TECHNIP, 1981.
- [41] Andreus J., Azevedo H, et. Cavaco-Paulo A, « Effects of temperature on the cellulose binding ability of cellulase enzymes », *J. Mol. Catal. B Enzym.*, vol. 7, no 1-4, p. 233-239, sept. 1999.
- [42] Hasunuma T. et. Kondo A, « Development of yeast cell factories for consolidated bioprocessing of lignocellulose to bioethanol through cell surface engineering », *Biotechnol. Adv.*, vol. 30, no 6, p. 1207-1218, nov. 2012.
- [43] Balat M., « Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review », *Energy Convers. Manag.*, vol. 52, no 2, p. 858-875, févr. 2011.
- [44] Hari Krishna S., Janardhan Reddy T, et. Chowdary G. V, « Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic wastes to ethanol using a thermotolerant yeast », *Bioresour. Technol.*, vol. 77, no 2, p. 193-196, avr. 2001.
- [45] Paulová L., Patáková P., Branská B, Rychtera M., et Melzoch K., « Lignocellulosic ethanol: Technology design and its impact on process efficiency », *Biotechnol. Adv.*
- [46] Ogier J. C, Leygue, J. P, Ballerini D, Pourquoi J., et. Rigal L, « Production d'éthanol a partir de biomasse lignocellulosique », *Oil Gas Sci. Technol.*, vol. 54, no 1, p. 67-94, janv. 1999.
- [47]. Kim S. R., Lee K.-S., Choi J.-H., Ha S.-J., Kweon D.-H., Seo J.-H, et. Jin Y.-S, « Repeated-batch fermentations of xylose and glucose-xylose mixtures using a respiration-deficient *Saccharomyces cerevisiae* engineered for xylose metabolism », *J. Biotechnol.*, vol. 150, no 3, p. 404-407, nov. 2010.
- [48] Esra Uckun Kiran a Antoine P. Trzcinski a, Wun Jern Ng a,b, Yu Liu journal homepage « Bioconversion of food waste to energy » A review : www.elsevier.com/locate/fuel

- [49] Gonçalves D. L., Matsushika A, de Sales B., Goshima T., Bon E. P. S., et Stambuk, B. U. « Xylose and xylose/glucose co-fermentation by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strains expressing individual hexose transporters », *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 63, p. 13-20, sept. 2014.
- [50] Dragone G., Silva D. P, et de Almeida J. B e Silva, « Factors influencing ethanol production rates at high-gravity brewing », *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 37, no 7, p. 797-802, nov. 2004.
- [51]. Aldiguié A. S., Alfenore S., Cameleyre X. Goma, G., Uribelarrea J. L., Guillouet S. E, et. Molina-Jouve C, « Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behaviour in ethanol bio-fuel production », *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 26, no 4, p. 217-222, juill. 2004.
- [52]. Buzás Z., Dallmann K, et. Szajáni B, « Influenc of pH on the growth and ethanol production of free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells », *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 34, no 6, p. 882-884, 1989.
- [53]. Balat M et Progress al. « in Energy and Combustion Science », vol **34**, P551–573 (2008).
- [54] Isabelle Didderen, Jacqueline Destain, Philippe Thonart, « Le bioéthanol de seconde génération » Les presses agronomiques de Gembloux (2008).
- [55] Esra Uçkun Kiran a, Yu Liu « Bioethanol production from mixed food waste » by an effective enzymatic Pretreatment Fuel vol 159 p 463–469 (2015)
- [56] MODECOM, (1993). « Méthode de caractérisation des ordures ménagères ». ADEME (Angers). Déchets ménagers et assimilés
- [57]] El Daniel Ballerini(2006), biocarburants: Etat des lieux, perspectives et enjeux du développement, Chapitre 6, pp 264-287, France
- [58] Browning B.L. (1967),. *Methods of wood chemistry*, vol.2. Interscience publishers, JohnWiley & Sons, New York, , pp. 812.
- [59] Rémy L.,(1993) Mémoire présentée à l'université du Québec à Chicoutimi, Extraction ,
Caractérisation Et biotransformations de la lignine de Klason extraite de l'épinette blanche *PICEA GLAUCA (MOENCH)* , .
- [60] Torget RW, Werdene P, Grohmann K (1990) Dilute acid pretreatment of two short-rotation herbaceous crops. *Appl Biochem Biotechnol* 24(25):115–126

- [61] Esteghalian A, Hashimoto AG, Fenske JJ, Penner MH (1997) Modelling and optimization of dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stove, poplar and switchgrass. *Bioresour Technol* 59:129–136
- [62] Paulina Leite, José Manuel Salgado·Armando Venâncio ^a, José Manuel Domínguez ^b, Isabel Belo ^a(2016) Ultrasounds pretreatment of olive pomace to improve xylanase and cellulase production by solid-state fermentation *bioresource technologie* 214,737-746
- [63] Kadar, Z., Szengyel, Z., Reczey, K., 2004. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops and Products* 20, 103–110.
- [64] Ohgren, K., Bura, R., Lesnicki, G., Saddler, J., Zacchi, G., 2007. A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover. *Process Biochemistry* 42 ,834-839
- [65] M. Warzywoda, D. Ballerini et F. Monot, ‘*Procédé de Production d’Enzymes Cellulolytiques et Hémicellulolytiques Utilisant les Résidus de Distillation de Fermentation Ethanolique d’Hydrolisats Enzymatiques de Matériaux (Ligno-) cellulosiques*’, Fascicule de Brevet Européen 2011, 44, 5.
- [66] Dubois.M., Gilles.A.K., Hamilton .J.K., Rebers .P.A. and Smith. F., (1956)‘Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances’, *Analytical Chemistry*, Vol. 28, pp. 350 –356
- [67] C.Cara, E Ruiz, M Ballesteros , P Manzanares , M Jose´ Negro ,E Castro.2008‘Production of fuel ethanol from steam-explosion pretreated Olive TREE pruning’*Fuel* 87 , 692–700.
- [68] XI. Xionggang, W. Xinlin, W. Yuanfeng, C. Qinjie and X. Jianbo, ‘*Detemination of Polysaccharides in Camellia Sinensis by a Modified Phenol-Sulfuric Acid Method*’, *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, Vol. 62, N°2, pp. 669 – 676, 2010.
- [69] **Ye Sun, Jiayang Cheng.**, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review; *Bioresource Technology*, 83, (2002), pp.1-11.
- [70] M. Balat, « Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review », *Energy Convers. Manag.*, vol. 52, no 2, p. 858-875, févr. 2011.

[71] Svetlana Nikolic, Ljiljana Mojovic, Marica Rakin, Dusanka Pejin, Jelena Pejin “Utilization of microwave and ultrasound pretreatments in the production of bioethanol from corn”, Springer (March 2011) vol 594 p589.

[72] Halimatun Saadiah Hafid , Nor 'Aini Abdul Rahman ,Mohd Noriznan Mokhtar , Ahmad Tarmezee Talib ,Azhari Samsu Baharuddin , Umi Kalsom Md Shah «Over production of fermentable sugar for bioethanol production from carbohydrate-rich Malaysian food waste via sequential acid enzymatic hydrolysis pretreatment » ,waste management 2017

[73] kang Q ,Appels L ,Tan T,Dewil R. « Bioéthanol from lignocellulosic biomass » Current findings determine research priorities, Sci World J 2014-298153.

[74] A.Boulal, Z. Benbrahim. , B. Benali, S. Ladjel. « 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)]

[75] 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)

[76] L. G. D'Alessandro. « Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits. » Thèse de doctorat. Ecole Doctorale Sciences de la matière, du Rayonnement et de l'Environnement. (2013)

[77] J.Barow, enzyme assisted extraction of bioactives from plants. Trends in biotechnology. Vol.30 n°1.2012].

[78] Jeong S, Kim Y, Lee D. Ethanol production by co-fermentation of hexose and pentose from food wastes using *Saccharomyces coreanus* and *Pichia stipitis*. Korean J Chem Eng 2012;29:1038–43

[79] Yan S, Chen X, Wu J, Wang P. Ethanol production from concentrated food waste hydrolysates with yeast cells immobilized on corn stalk. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012;94:829–38

ANNEXE

Annexe I : Préparation de milieu de fermentation

Le milieu de fermentation 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 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 6 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 g de KH_2PO_4 , 0,1 g CaCl_2 , 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"

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

C(mg/L)	Absorbance
0	0
10	0,4
30	0,65
150	1,71
225	2,43
300	3,291

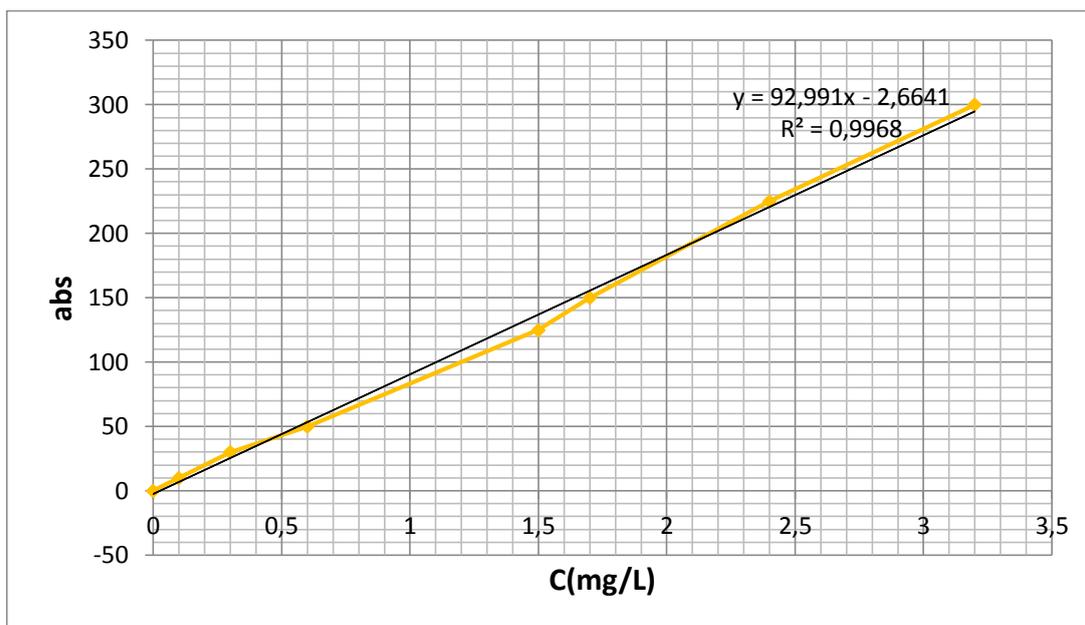


Figure : Courbe d'étalonnage des sucres totaux

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".

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

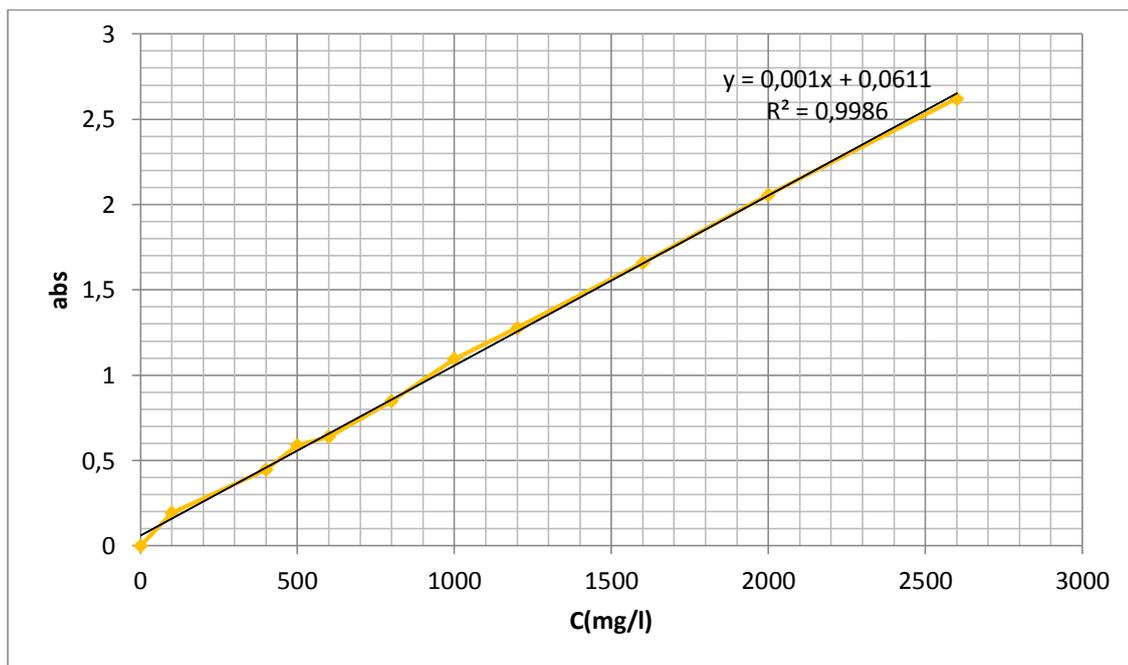


Figure : Courbe d'étalonnage des sucres réducteurs

