

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



MEMOIRE DE MASTER

Spécialité : Génie de l'environnement.

Présenté par :

BENABDALLAH Zeid Rayane et BERKANE Hicham

Isolement et caractérisation des souches levuriennes productrices de l'éthanol à partir du marc de raisin.

Encadreur :

Dr. LARIBI HABCHI Hassiba

Co-encadreur :

M. NEFOUCI Nour El Islem Abdellah

Septembre 2020

REMERCEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH tout puissant de m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.

Je remercie spécialement ma promotrice Docteur **Laribi HABCHI Hassiba**, maitre de conférences (A) à l'université de Blida 1 pour sa disponibilité, ses précieuses remarques et sa compréhension.

Je remercie très chaleureusement mon Co-promoteur **M. NEFOUCI Nour EI Islem Abdellah** qui n'a ménagé aucun effort pour que ce mémoire puisse voir le jour. Je lui exprime ma gratitude de m'avoir dirigé, encouragé et surtout aidé afin de réaliser ce travail.

Je remercie tous les enseignants de mon cursus universitaire qui ont contribué à ma formation et ma famille et tous ceux m'ont aidé de près ou de loin lors de la réalisation de ce travail.

RESUME

Ce travail consiste à isoler des levures productrices de l'éthanol à partir de marcs de raisin. Une synthèse des études déjà menées a été faite afin de d'approfondir la recherche dans le domaine de la production du bioéthanol par différentes méthodes avec l'utilisation des souches de levures.

Le suivie des différents paramètres tels que: la teneur en éthanol, les sucres totaux, la densité et le pH nous permet de conclure la production de bioéthanol qui dépend essentiellement de la concentration en sucres totaux présent dans la biomasse et du type de levure utilisé ainsi que le procédé de production.

Mots clés: levure, bioethanol, marc de raisin, fermentation

ABSTRACT

This work consists of isolating yeast-producing ethanol from grape marcs. A synthesis of the studies already carried out was made in order to deepen research in the field of bioethanol production by different methods with the use of yeast strains.

The monitoring of the various parameters such as: ethanol content, total sugars, density and pH we can conclude that bioethanol production depends mainly on the total sugar and concentration in the yeast type biomass used and the production process.

Keywords: yeast, bioethanol, grape marc, fermentation

ملخص

يتلخص هذا العمل في عزل الخمائر المنتجة للإيثانول من بقايا العنب وقد جمعت الدراسات التي أجريت بالفعل من أجل تعميق البحوث في مجال إنتاج الإيثانول الحيوي باستخدام سلالات الخميرة. رصد معايير مختلفة مثل: محتوى الإيثانول، السكريات الكلية، كثافة ودرجة الحموضة تسمح لنا باختتام إنتاج الإيثانول الحيوي الذي يعتمد أساسا على تركيز السكريات الكلية الموجودة في الكتلة الحيوية وعلى نوع الخميرة المستخدمة أيضا من عملية الإنتاج.

الكلمات المفتاحية: الخميرة ، الإيثانول الحيوي ، العنب ، التخمر

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
1. biomasse	2
1.1 Le marc de raisin :	3
1.2 L'utilisation des marcs de raisins :	3
1.3 Valorisations en cours d'étude et en développement :	5
1.3.1 Méthanisation des marcs de raisins :	5
1.3.2 Peaux de marcs de raisins :	5
1.3.3 Rafles :	5
1.3.4 Fabrication de charbons :	6
1.3.5 Les distilleries vinicoles :	6
2. les levures	8
2.1 Définition :	9
2.2 Morphologie :	9
2.2.1 La forme levure :	9
2.2.2 La forme pseudomycélium :	10
2.2.3 La forme mycélium :	10
2.3 Structure cellulaire de la forme levure :	10
2.4 La paroi :	11
2.5 L'espace périplasmique :	11
2.6 Membrane plasmique :	11
2.7 Le cytoplasme :	12
2.8 Le noyau et le réticulum endoplasmique :	12
2.9 Mécanismes de production d'éthanol :	12
2.9.1 Métabolisme fermentaire :	12
2.9.2 Métabolisme respiro-fermentaire :	13

2.9.3	Métabolisme oxydatif :.....	14
3.	bioethanol	15
3.1	Définition :.....	15
3.2	Production du bioéthanol dans le monde :.....	15
3.3	Utilisation du bioéthanol :.....	16
3.4	Procèdes de Production du bioéthanol :.....	17
3.4.1	Matières premières utilisées :.....	17
3.4.2	Microorganismes utilisés :.....	19
	Synthèse BIBLIOGRAPHIQUE	23
1.	Etude du pouvoir fermentaire de levures isolées naturellement à partir des dattes au sud d'Algérie (Application à la fermentation de deux variétés de dattes communes de faible valeur marchande) :	23
1.1	Procédé de production :	23
1.2	Interprétation des résultats :.....	24
2.	Etude de la production d'éthanol biocarburant à partir des rejets agricoles :	25
2.1	Matériels et méthodes :	25
2.2	Interprétation des résultats :.....	26
2.2.1	Caractéristiques du substrat :.....	26
3.	Transformation des déchets de dattes de la région d'Adrar en bioéthanol :	27
3.1	Matériels et méthodes :	27
3.2	L'interprétation des résultats :	28
4.	VALORISATION DE DECHETS DE DATTES TUNISIENNES : PRODUCTION DE BIOETHANOL :	30
4.1	Matériels et méthodes :	30
4.2	Interprétation des résultats :.....	31
5.	Optimisation de la production d'éthanol par les techniques d'hydrolyse de l'amidon de manioc et la fermentation de la levure de bière (Saccharomyces cerevisiae) :	32

5.1	Interprétation des résultats :.....	33
5.1.1	Influence de la méthode d'hydrolyse sur les sucres du moût :	33
5.1.2	Influence de la concentration en amidon sur la production d'éthanol : ..	33
5.1.3	Influence de la concentration en amidon sur le rendement de la production d'alcool :	33
5.1.4	Influence des facteurs physico-chimiques pour optimiser la production d'alcool	33
5.2	Résultats :.....	33
6.	Évaluation du pouvoir fermentaire de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> et de <i>S. carlsbergensis</i> dans la production de bioéthanol à partir du jus de la pomme cajou :	34
6.1	Matériels et méthodes :	34
6.2	Interprétation des résultats :.....	35
6.3	Production d'éthanol et durée moyenne de fermentation :.....	36
7.	Études comparative :	37
	Conclusion.....	39

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Grappe de raisin	4
Figure 2 : Exemples de procédés de la filière des distilleries vinicoles (IFV, 2013).	7
Figure 3: Voies métaboliques chez les levures [44].	13
Figure 4: Nœud métabolique du pyruvate et de l'acétaldéhyde.	14
Figure 5: Evolution de la production du bioéthanol en millions de litres par région du monde (Source OCDE, 2012).	16
Figure 6 : Utilisation potentielle du bioéthanol [56].	17
Figure 7 : Schéma explicatif de production du bioéthanol à partir de plusieurs sources de sucres.	19
Figure 8 : Purification de la souche S1, S2 et S3 sur milieu sabouroud.....	24
Figure 9 : Cinétique classique du pH lors d'une fermentation alcoolique	24
Figure 10 : évolution temporelle des sucres totaux	27
Figure 11 : Courbes d'évolution du taux de glucose et du degré alcoolique au cours de la fermentation	29

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :Souches de levures produisant l'éthanol comme produit majeur de fermentation [73]	21
Tableau 2 :Souches de bactéries productrices d'éthanol comme produit majeur de fermentation [73]	22
Tableau 3 : Caractéristique du substrat	26
Tableau 4 : Dégradation du pH	28
Tableau 5 : Caractéristiques chimiques de déchets de dattes <i>Deglet-Nour</i>	31

LISTE DES ABREVIATIONS

BRIX : Pourcentage de matière sèche soluble.

PDA : La gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre.

ATP : L'adénosine triphosphate.

ADP : L'adénosine diphosphate.

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide.

FAD : flavine adénine dinucléotide.

pH : Le potentiel hydrogène

T : température

GLOSSAIRE :

Diploïde : Une cellule biologique est **diploïde**, lorsque les chromosomes qu'elle contient sont présents par *paires* (**2n** chromosomes).

Haploïde : Une cellule biologique est **haploïde**, lorsque les chromosomes qu'elle contient sont chacun en un seul exemplaire (**n** chromosome).

Ubiquitaire : Qualifie une molécule pouvant se trouver dans tous les différents types de cellules d'un être vivant.

Apiculée : Petite pointe terminale d'un organe, de consistance molle

INTRODUCTION GENERALE

Face au réchauffement climatique et à l'épuisement programmé de la ressource énergétique fossile, et que dans un avenir proche, les réserves de pétrole devront être complétées par les biocarburants afin d'assurer une part de notre richesse naturelle pour la génération future. C'est pour cela, les procédés bioénergétiques ont pris, ces dernières années, une importance grandissante dans le monde entier notamment dans le domaine de la recherche.

Le bioéthanol est obtenu après fermentation alcoolique des sucres issus de matières premières végétales. Différentes générations se distinguent selon le substrat utilisé. Les biocarburants de première génération sont produites à partir de substrats amylacés, d'origine alimentaire comme la betterave sucrière (sucre, mélasses...), le blé, le colza, le tournesol ou le maïs (amidon, cellulose). L'inconvénient est que seulement une partie des plantes est exploitée et que ces matières premières entrent en concurrence directe avec la chaîne alimentaire animale ou humaine. Les biocarburants de deuxième génération qui utilisent la plante entière, dont la lignocellulose, provenant de résidus agricoles et industriels et des ressources forestières. Cette utilisation de matières économiques et abondantes, non valorisables pour l'alimentaire, permet de maximiser le rendement énergétique à l'hectare et de limiter les surfaces nécessaires [1].

Une grande variété de microorganismes produit de l'éthanol à partir de polysaccharides[2]. Cependant, peu sont, réellement, compétitifs en termes de rendement en éthanol par rapport au substrat consommé, de capacité fermentaire, de tolérance à l'éthanol élevée et d'adaptation aux conditions de fermentation.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés dans le présent projet à isoler des souches lévuriennes productrice du bioéthanol. Nous avons donc opté pour le marc de raisin issu de l'industrie viticole.

Le premier chapitre de ce manuscrit est dédié à une étude bibliographique concernant le bioéthanol, les caractéristiques des levures et la biomasse

Dans le deuxième chapitre, nous résumons une synthèse des travaux antérieurs afin d'approfondir la recherche dans le domaine de la production de bioéthanol.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale suivie de quelques perspectives pouvant être bénéfiques à un travail ultérieur.

1. BIOMASSE

1.1 Le marc de raisin :

Les marcs (résidus « solides ») et les lies (résidus « liquides ») résultent de l'élaboration du vin. Les distilleries prennent en charge ces résidus en provenance des caves coopératives de vinification ainsi que des caves particulières, afin de les transformer en bioéthanol et autres produits [3].

1.2 L'utilisation des marcs de raisins :

Le marc de raisin se présente comme un ensemble de résidus secs, parmi lesquels figurent généralement la peau des raisins, leurs pépins et la rafle. Cette dernière est la partie ligneuse ramifiée des grappes, autrement dit la « charpente » des grappes. A l'aspect sec et friable, le marc de raisin a une couleur qui varie entre le jaune et le mauve selon les variétés de raisins utilisés.

Le marc de raisin a suscité un grand intérêt en phytothérapie en raison de sa composition en principes actifs. Il concentre en effet de nombreux composés, parmi lesquels figurent :

- des anthocyanes ;
- des flavonoïdes dont des catéchines et des flavonols
- des acides phénoliques tels que l'acide hydroxycinnamique et l'acide gallique ;
- des stilbènes dont le trans-resvératrol ;
- des tanins ;
- des fibres.

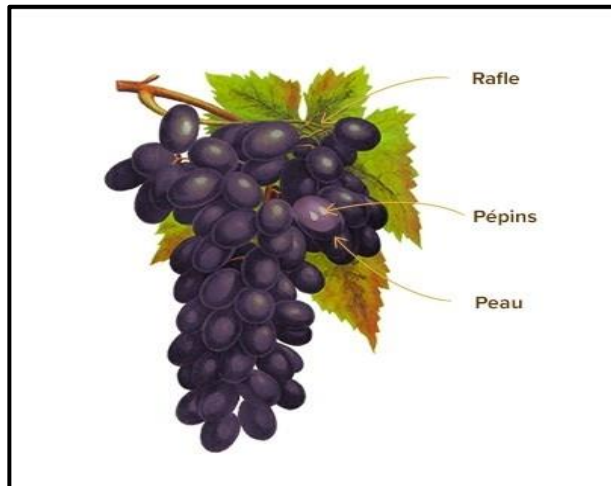


Figure 1: Grappe de raisin

Aujourd'hui, le marc de raisin est particulièrement plébiscité en cosmétique et en phytothérapie. Il entre ainsi dans la composition de plusieurs produits topiques tels que des crèmes et des gels, mais également dans la formulation de compléments alimentaires. Ces derniers se présentent généralement sous la forme de gélules. Toutefois, lorsque le marc de raisin est associé à d'autres extraits végétaux ou d'autres principes actifs, les suppléments peuvent être conditionnés sous d'autres formats tels que des comprimés ou des ampoules [4].

Après passage en distillerie afin d'en extraire l'alcool, le marc de raisin désalcoolisé trouve plusieurs débouchés :

après séchage, la pulpe peut servir à l'alimentation animale ou rentrer dans la composition de bouchons d'engrais organiques

retour du marc non composté aux terres agricoles Bien que celui-ci soit mis gratuitement à disposition des viticulteurs adhérents, sa forte humidité entraîne des transports d'eau superflus et les tanins peuvent rendre difficile la décomposition dans le sol [5].

Actuellement, le marc non composté est épandu par habitude « culturelle » sur les parcelles de vignes, en très grandes quantités (jusque 100 t/ha) mais outre la clôture des cycles des nutriments, son intérêt agronomique n'est pas clairement connu. Cet épandage a surtout une vocation d'écoulement des surplus [6].

1.3 Valorisations en cours d'étude et en développement :

1.3.1 Méthanisation des marcs de raisins :

La digestion anaérobie de marc de raisin, comme pour de nombreux coproduits agricoles, permet de produire du méthane (biogaz) pour des applications énergétiques. Le marc de raisin est moins méthanogène que d'autres sous-produits tels que les peaux de noisettes et nettement moins méthanogène que les lies de vin [7]

1.3.2 Peaux de marcs de raisins :

Des peaux de marcs de raisins blancs ont été utilisées après extraction à l'hexane ou à l'eau pour fabriquer des panneaux composites de faible densité. Ces panneaux composites, encollés à l'aide de résine urée-formaldéhyde à hauteur de 8 % (m/m) et de sulfate d'ammonium (1 %), présentent de bonnes performances pour une application en isolation thermique. Dans le but de maximiser l'utilisation des coproduits, les extraits obtenus ont été analysés. La molécule extractible la plus intéressante obtenue avec l'hexane est l'acide oléanolique, précurseur de plusieurs molécules médicamenteuses. L'extraction à l'eau permet d'obtenir de l'éthanol après fermentation des sucres extraits [8].

D'autres études ont montré que les extraits aqueux de peaux de marc de raisin peuvent servir de substrat pour la fabrication de pullulane par le champignon *Aureobasidium pullulans*.

Le pullulane est un polysaccharide exocellulaire constitué d'unités de maltotriose liées par des liaisons osidiques α 1-6. Les applications de ce polymère sont nombreuses : films, adhésifs, agent de micro-encapsulation ou additif alimentaire [9].

1.3.3 Rafles :

Les rafles de raisin issues de l'industrie vinicole ont été employées avec succès pour décontaminer des eaux usées. Les propriétés adsorbantes des rafles vis-à-vis des métaux sont attribuables aux protéines, aux polysaccharides et aux polyphénols qui permettent de fixer les ions métalliques grâce aux groupes amines et à leurs liaisons carboxyles, hydroxyles, sulfates et phosphates [10].

Des rafles ont aussi été compostées en association avec des boues d'épuration vinicoles. Ce compost présente un intérêt agronomique important pour les vignes [11].

1.3.4 Fabrication de charbons :

Plusieurs procédés ont été développés afin de transformer les marcs de raisins en charbons. Deux d'entre eux sont la carbonisation hydrothermale et la torréfaction [12].

1.3.5 Les distilleries vinicoles :

Partenaires de la viticulture depuis plus d'un siècle. Les distilleries vinicoles jouent un rôle environnemental pour la viticulture. Elles sont également au cœur d'une économie circulaire dans les territoires et elles ont aussi un rôle qualitatif et de régulateur des marchés des vins.

- **Leur rôle environnemental :**

Les distilleries vinicoles jouent un rôle environnemental en éliminant la charge polluante des marcs de raisin (sous-produits du pressurage composés d'alcool, de peaux, de pulpes,...) et des lies de vin (sous-produits de la vinification obtenus après décantation des moûts et des vins), compte tenu de leur nature organique et de leur teneur en alcool.

Le recyclage des marcs et des lies par distillation est aujourd'hui le procédé le plus performant d'un point de vue environnemental.

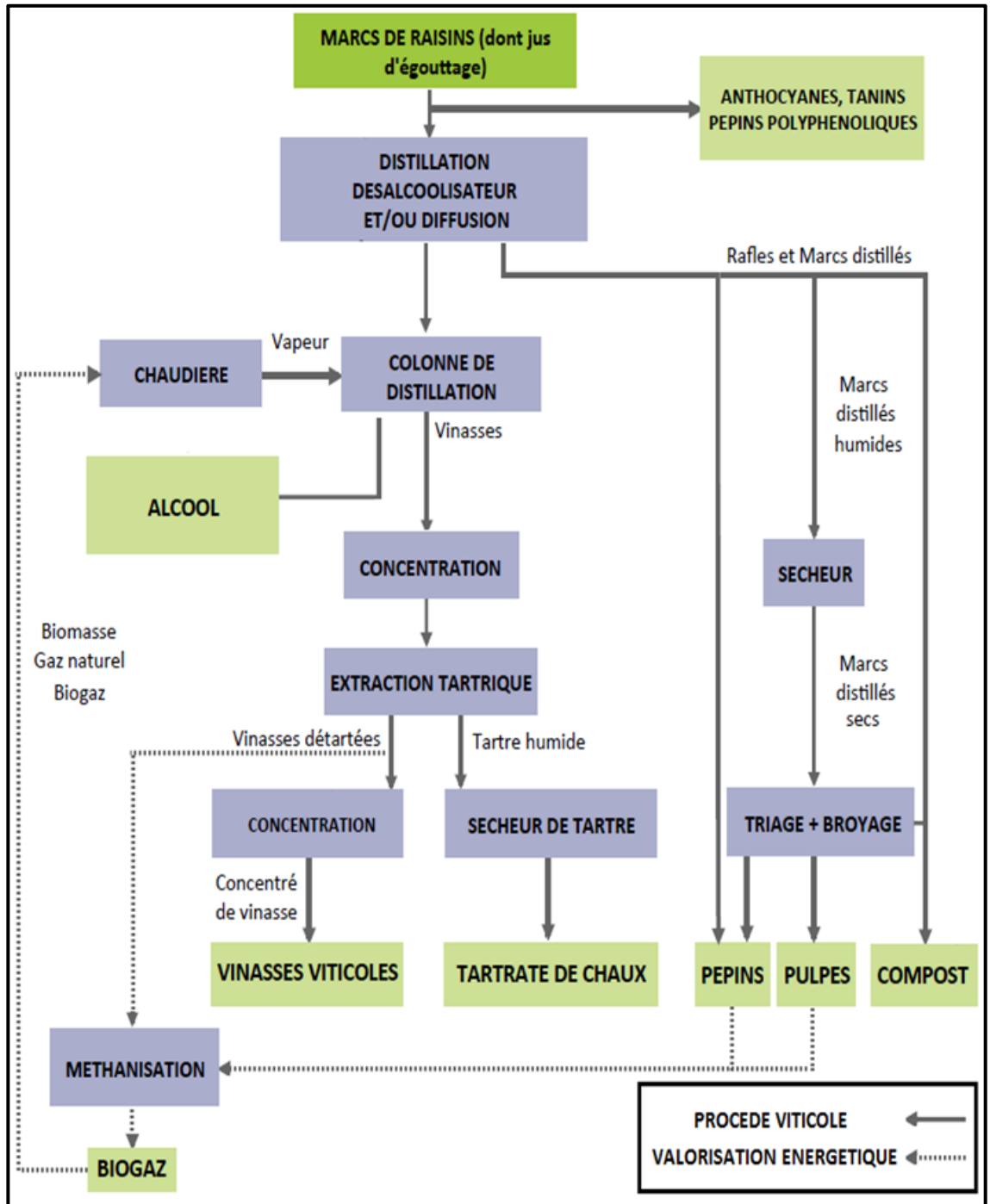


Figure 2 : Exemples de procédés de la filière des distilleries vinicoles [83].

2. LES LEVURES

2.1 Définition :

Les levures, champignons unicellulaires pour tout ou une partie de leur cycle végétatif, forment un groupe très hétérogène. Il existe des formes intermédiaires entre levures et champignons supérieurs typiques qui rendent leur distinction avec les champignons filamenteux très subjective [13]. Certaines levures ont une reproduction sexuée qui correspond à une phase de leur cycle biologique où on note une alternance des phases haploïde et diploïde. Le bourgeonnement qui est le mode de reproduction végétatif le plus fréquent, est représenté par une évagination qui apparaît à un point de la cellule mère. Le bourgeon grandit peu à peu en formant une nouvelle cellule qui se détache de la cellule mère. Deux autres modes de reproduction végétative peuvent être rencontrés: la fission, caractéristique du genre *Schizosaccharomyces*, qui se manifeste par la formation d'une paroi transversale au grand axe de la levure et le bourgeonnement sur stérigmates, propre au *Sterigmatomyces*, où la cellule fille prend naissance sur une protubérance formée sur la cellule mère.

Ces micro-organismes ubiquitaires [14-15] peuvent coloniser l'air, le sol, l'eau [16], le tube digestif de certains animaux et les galeries d'insectes [17-20]. Certaines levures ont été isolées à partir d'environnements extrêmes comme celles isolées à partir de l'Antarctique [21]. D'autres vivent principalement sur les végétaux riches en sucres, dans les liquides sucrés, ou dans des aliments tels que le pain et les céréales [22]. Les levures utilisatrices de lactose se rencontrent ainsi dans les produits laitiers [23].

2.2 Morphologie :

La morphologie des levures est très variée. On distingue trois formes : la forme levure, le pseudomycélium et le mycélium.

2.2.1 La forme levure :

C'est la plus simple, il s'agit de cellules uniques, libres ou associées deux à deux ayant une morphologie caractéristique : sphérique, ovoïde, globuleuse ou cylindrique. Des formes spécifiques sont parfois distinguées comme la forme apiculée (*Hanseniaspora* et

Kloeckera), en bouteille (Pityrosporum), triangulaire (Trigonopsis) ainsi que la forme pyramidale et ogivale (Dekkera) [24].

2.2.2 La forme pseudomycélium :

Chez certaines espèces et après bourgeonnement, les cellules filles restent associées les unes aux autres et donnent des chaînettes constituées de plusieurs cellules formant un pseudomycélium. Ce dernier peut être rudimentaire ne comptant que quatre à cinq cellules comme il peut être plus important et présenter des ramifications. Souvent les cellules centrales s'allongent et dessinent un axe principal, tandis que les cellules localisées aux extrémités restent courtes et forment des blastospores (ou blastoconidies) au niveau des constrictions, l'anaérobiose favorisent la production de cette forme [25].

2.2.3 La forme mycélium :

La propriété de donner un vrai mycélium séparé par des cloisons ou septa caractérise certaines espèces de levures. Cette différenciation résulte d'un allongement important des cellules et l'hyphe ainsi formée prolifère par une croissance apicale. Dans la majorité des cas, c'est le pseudomycélium qui se transforme en mycélium, mais il existe des espèces chez lesquelles les levures donnent directement un filament sans passer par ce dernier.

2.3 Structure cellulaire de la forme levure :

La structure cellulaire des levures, qui est sous la dépendance des conditions physico-chimiques et de l'âge de la culture, est de type eucaryote et possède une paroi épaisse et rigide, un noyau limité par une membrane nucléaire, un cytoplasme contenant divers organites et inclusions dont des mitochondries et une grande vacuole. Chez certaines levures, on note l'existence d'une capsule constituée de phosphomannanes solubles dans l'eau (Hansenula, Pichia), de mannanes plus ou moins ramifiés (Rhodotorula) ou d'hétéropolysaccharides (Cryptococcus) [26].

2.4 La paroi :

C'est une structure dynamique externe qui englobe toute la cellule conférant sa rigidité et sa forme caractéristique. Elle représente 15 à 20% de la matière sèche de la cellule, d'épaisseur 150 à 230 nm. Sa composition chimique qui est sujette à des variations importantes suivant les espèces, le cycle cellulaire et les conditions de culture [27] comprend environ 80% de polysaccharides principalement des mannanes [28-30] et des glucanes [31-32] en proportion quasi égales, 10 à 20% de protéines, 7 à 10% de lipides, 5% de sels minéraux et 1 à 3% de chitine qui se trouve majoritairement au niveau des cicatrices de bourgeonnement afin de maintenir l'intégrité de la paroi [33-34]. La couche intérieure de la paroi est en grande partie responsable de sa force mécanique et fournit aussi les sites d'attachement pour les protéines qui forment sa couche extérieure [35]. Cette structure joue un rôle important en maintenant une structure élastique qui assure une protection osmotique et constitue une barrière physique.

2.5 L'espace périplasmique :

C'est un espace qui est délimité par la membrane plasmique et la couche interne de la paroi et représente le seul site de localisation cellulaire des enzymes telles que l'invertase [36], la phosphatase acide [37];[38], les β -galactosidases, les β -glucanases (1-3) et β (1-6) et des protéases [39].

2.6 Membrane plasmique :

C'est une membrane simple et fragile qui se trouve sous la paroi avec une épaisseur de 7,5 nm, retenant l'ensemble des constituants intracellulaires et résistante aux pH acides mais altérée par des pH alcalins. Les membranes biologiques sont composées de deux types de constituants principaux : les lipides et les protéines. La diversité des membranes étant très grande, les compositions lipidiques diffèrent selon les organismes. Dans la composition lipidique de la membrane plasmique, on distingue les phospholipides et les stérols. Parmi ces derniers c'est l'ergostérol qui est le dérivé majeur et dont la teneur varie d'une espèce à l'autre et en fonction de l'âge des cellules.

2.7 Le cytoplasme :

Le cytoplasme renferme en plus des organites cellulaires tels que les mitochondries (qui contiennent des ADN, ARN, ARN polymérase et des enzymes respiratoires) et l'appareil de Golgi, des vacuoles (où se trouve le pool des acides aminés en plus des purines, des orthophosphates polymérisés et des hydrolases) et des ribosomes. Il contient également des enzymes, notamment celles de la glycolyse et de la fermentation alcoolique, des polysaccharides, des polyphosphates, du glycogène et du tréhalose [26].

2.8 Le noyau et le réticulum endoplasmique :

La levure possède en général un seul noyau qui est entouré d'une enveloppe à deux membranes où la membrane externe est en relation continue avec un système membranaire cytoplasmique important, le réticulum endoplasmique. En de multiples endroits les membranes externe et interne fusionnent pour former des pores, ces derniers permettent les échanges entre le noyau et le reste de la cellule. Il contient le génome de la levure qui est réparti sur les chromosomes dont la structure est semblable à celle des autres eucaryotes avec un enroulement de l'ADN en «grains de chapelet» formés par des nucléosomes constitués d'histones de type H2a, H2b, H3 et H4.

2.9 Mécanismes de production d'éthanol :

Trois comportements métaboliques peuvent être distingués chez les levures selon la façon dont elles dégradent la source de carbone utilisée pour produire leur énergie: oxydatif, fermentaire et respiro-fermentaire [40-41]. Le type métabolique, lui-même, varie selon l'environnement (présence d'oxygène), la source de carbone et l'espèce de la levure considérée [42]. la production d'éthanol s'effectue grâce au métabolisme fermentaire et respiro-fermentaire.

2.9.1 Métabolisme fermentaire :

Cette voie métabolique se déroule en anaérobiose. L'acide pyruvique produit à la fin de la glycolyse est décarboxylé en acétaldéhyde, lui même réduit en éthanol grâce au

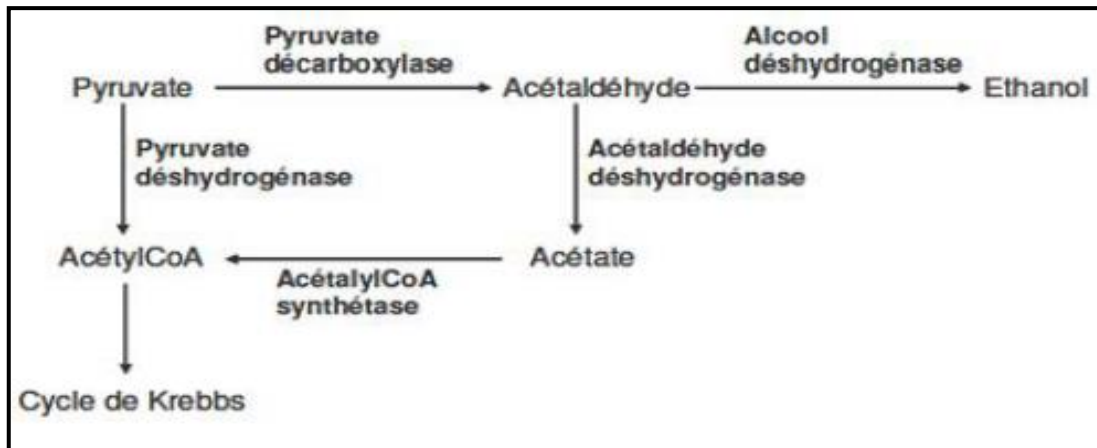


Figure 4: Nœud métabolique du pyruvate et de l'acétaldéhyde.

2.9.3 Métabolisme oxydatif :

Ce type de métabolisme nécessite la présence d'oxygène et une concentration en substrat limitée afin d'éviter un changement métabolique vers la production d'éthanol et d'autres co-métabolites (effet Crabtree). Dans ces conditions, le glucose est oxydé via les voies métaboliques de la glycolyse, du cycle de Krebs et de la phosphorylation oxydative. Le cycle de Krebs permet la réduction du NADH et FADH₂ grâce à la production des co-enzymes et la synthèse de nombreux précurseurs nécessaires à la formation des principales macromolécules [17];[50]. Quant à la phosphorylation oxydative, elle permet la régénération des co-enzymes réduits NADH et FADH₂ produits lors de la glycolyse. Ainsi les électrons libérés sont transférés à l'oxygène moléculaire pour former une molécule d'eau et les protons exportés permettent de maintenir le potentiel transmembranaire entre l'espace intermembranaire et la matrice de la mitochondrie. De cette manière, l'entrée des protons à l'intérieur de la mitochondrie permet la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique grâce aux ATP synthases situées à la membrane interne mitochondriale. L'efficacité de la chaîne respiratoire est illustrée par le rapport du nombre de moles d'ATP formées par atome d'oxygène consommé (P/O) variable selon les souches. Ce métabolisme qui conduit à la formation du CO₂ et H₂O est très énergétique et permet aux levures de se maintenir en vie, de synthétiser de la matière organique et de produire de la biomasse (X) avec un rendement cellulaire élevé [51]. Dans ce cas l'oxydation du sucre est complète et le bilan énergétique théorique de cette voie métabolique est décrit par l'équation suivante :



3. BIOETHANOL

3.1 Définition :

De la biomasse, on peut obtenir différents types de produits pour la génération d'énergie. Un des plus importants est l'éthanol. Il est utilisé comme combustible liquide principalement dans des pays comme le Brésil, les Etats-Unis d'Amérique ou encore la Suède [52].

Le bioéthanol s'obtient par fermentation de matières premières sucrées avec un degré d'alcool initial de 10 à 15% pouvant être concentrées plus tard par distillation, jusqu'à obtention d'alcool hydraté. Ensuite, par un procédé spécial de déshydratation on obtient de l'alcool pur. Les matières premières que l'on utilise pour produire du bioéthanol doivent être des produits hydrocarbonés de faible coût, susceptibles de fermenter directement ou par un procédé d'hydrolyse [53].

3.2 Production du bioéthanol dans le monde :

Plusieurs éléments ont contribué à une extension et à une généralisation de la production agricole du bioéthanol dans le monde, en particulier, dans les pays industrialisés, à partir de 2000, parmi lesquels on cite : la hausse des prix du pétrole, l'approche du pic de la production de pétrole, la lutte contre le changement climatique et la surproduction agricole. La production du bioéthanol a augmenté dans le monde, durant la période de 2007 à 2011, avec une production, demeurant, faible dans l'UE27 par rapport à la production au Brésil et surtout aux Etats-Unis. La production mondiale est, selon Hanne[54], en constante augmentation sur cette période, de 72 milliards de litres en 2007 à 106 milliards de litres environ en 2011, soit une augmentation de 47% en 5 ans. Les deux premiers producteurs de bioéthanol sont, en l'occurrence : les Etats Unis et le Brésil. En effet, la production a atteint en 2011, 51 milliards de litres (48%) et 29 milliards de litres (27%), respectivement (figure 5). Il est à noter que le continent Africain ne produit que 0.2% du bioéthanol versus 0.4% en Océanie et 5.2% en Europe, selon les statistiques du RFA, 2011 (Renewable Fuels Association).

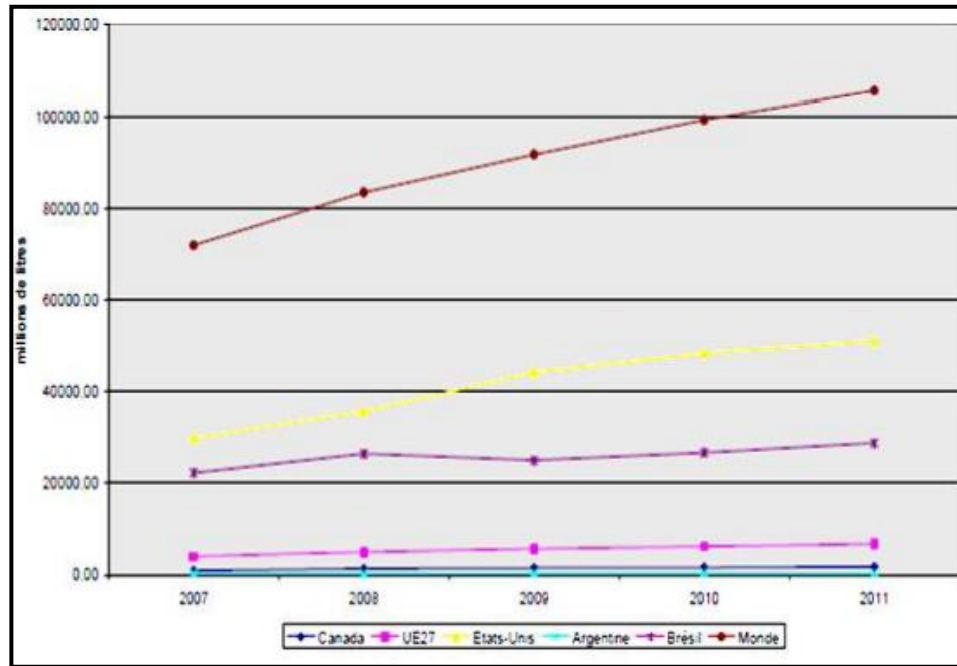


Figure 5: Evolution de la production du bioéthanol en millions de litres par région du monde[84].

3.3 Utilisation du bioéthanol :

Le bioéthanol peut être utilisé, sous certaines conditions, comme carburant dans les moteurs à essence, soit de 5 à 20% dans les moteurs à essence sans modification et/ou de 85 à 100% dans des moteurs à essence spécifiquement adaptés. En outre, l'éthanol peut être converti en divers produits de base de l'industrie chimique, tels, l'éthylène et l'éther éthyle tertiobutyle (ETBE), conventionnellement, produits à partir du pétrole (figure 6). Il est à signaler que le plastique résulte de la polymérisation de l'éthylène et de l'ETBE mélangé à raison de 15% à l'essence, permet d'augmenter l'indice d'octane du carburant, contrairement à l'éthanol, il ne favorise pas l'évaporation des carburants et n'absorbe pas l'humidité de l'air [55].

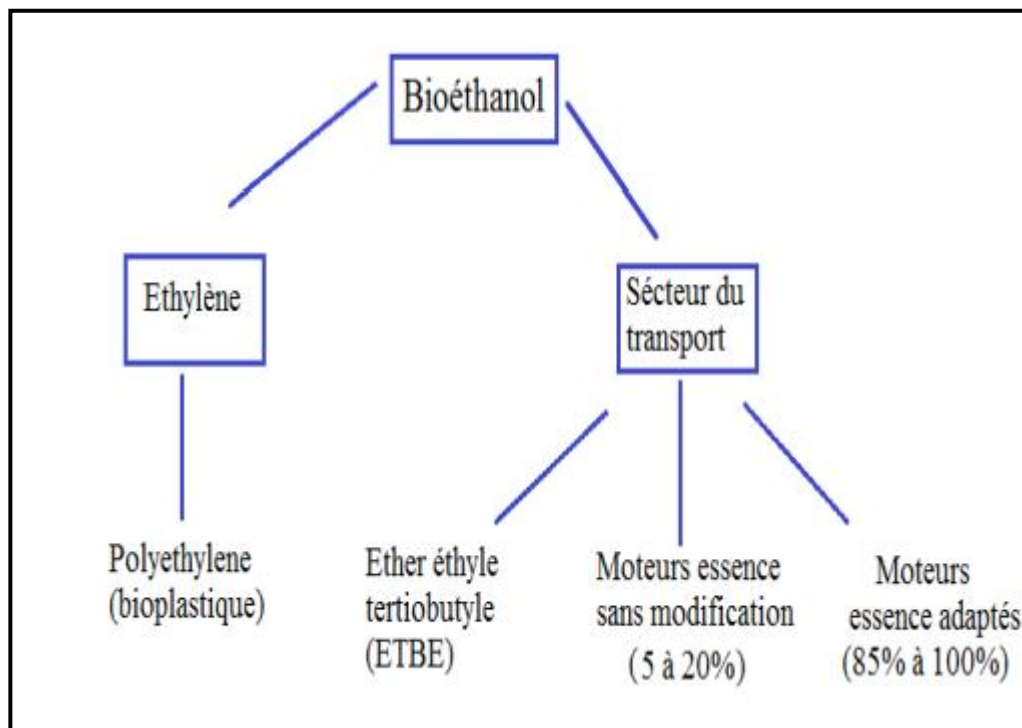


Figure 6:Utilisation potentielle du bioéthanol [56].

3.4 Procèdes de Production du bioéthanol :

3.4.1 Matières premières utilisées :

L'éthanol est un alcool éthylique qui peut être produit par synthèse à partir des hydrocarbures et/ou à partir de biomasse.

Seulement, la transformation de cette dernière par voie microbienne peut produire ce qu'on appelle le « bioéthanol». L'éthanol est obtenu après fermentation des plantes riches en sucres à l'aide de microorganismes (levures, bactéries, etc.) [57] .

3.4.1.1 Matières riches en polysaccharides :

Actuellement, il y a une légère prédominance de la production de bioéthanol, à base de matériaux amylacés (53% du total), comme le maïs, le blé et d'autres céréales et grains. Dans ces cas, la technologie de conversion commence généralement par la séparation, le nettoyage et la mouture du grain. Ensuite, l'amidon est converti typiquement en sucres au moyen d'un processus enzymatique à haute température . Les sucres libérés seront alors, fermentés par des levures et le liquide résultant sera distillé pour la séparation du bioéthanol (**figure 3**). Il est intéressant, de signaler que les matières premières riches en

inuline (polymère de fructose) constituent une source importante de fructose obtenu sous l'action de l'inulinase [58] produite par divers microorganismes.

3.4.1.2 Matières riches en sucres simples :

La canne et la betterave, sont des végétaux qui englobent énormément de sucre simples. Ils sont obtenus par un processus se basant sur l'extraction au moyen de la mouture ou de la diffusion, et qui pourront être soumis directement à une fermentation. Après la fermentation, le liquide est distillé (**figure 7**). Il est à noter que le bioéthanol dit « de première génération » est issu de la fermentation des matières premières qui peuvent être utilisées dans une chaîne alimentaire animale ou humaine. En revanche, l'éthanol issu de la fermentation des matières cellulosiques telles que le bois, les feuilles et les tiges des plantes ou celles issues de déchets est qualifié de la deuxième génération [59].

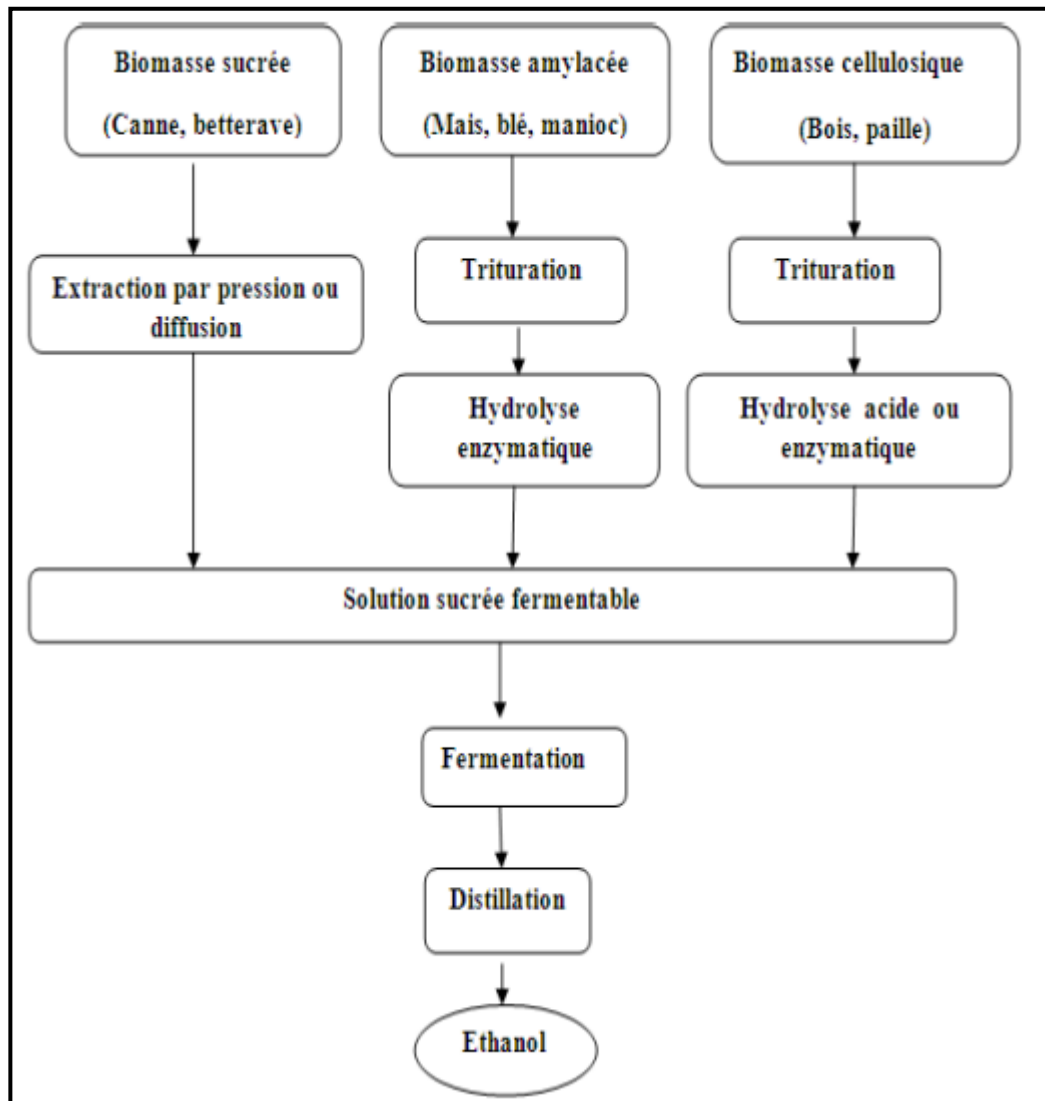


Figure 7 :Schéma explicatif de production du bioéthanol à partir de plusieurs sources de sucres[85].

3.4.2 Microorganismes utilisés :

Deux types de microorganismes interviennent lors du processus de production d'éthanol, en l'occurrence : ceux qui catalysent l'hydrolyse des polysaccharides en sucres fermentescibles et ceux qui convertissent ces derniers en éthanol [60-61]. Par ailleurs, il est à signaler, que certains microorganismes ont la capacité d'effectuer les deux types de réactions en même temps [62].

3.4.2.1 Microorganismes hydrolysant les polysaccharides :

Etant donné que la biomasse renferme des sources complexes tels que ; les feuillus et les résineux, les résidus agricoles comme la canne de maïs et les déchets des papiers non recyclable, le développement d'un prétraitement idéal, dans ce cas, reste compliqué et difficile. Ces diverses matières premières ont mené les chercheurs à tester de nombreux procédés allant de l'usage de l'eau chaude et les traitements d'explosion à la vapeur, au prétraitement aux acides, aux bases et aux solvants [63]. Toutefois, la désintoxication de la lignine hydrolysée à l'acide présente des coûts supplémentaires pour le processus d'hydrolyse en comparaison aux procédés enzymatiques. L'amidon a été toujours hydrolysé en dextrans et glucoses en utilisant les acides, cependant les enzymes s'avéraient présenter beaucoup plus d'avantages. En effet, la spécificité des réactions enzymatiques permet l'obtention de sucres ayant des propriétés physicochimiques bien définies et l'hydrolyse enzymatique est douce et engendre moins de brunissement [64]. La capacité des levures à produire l' α -amylase et la glucoamylase a été abordée dans plusieurs rapports. Celles-ci incluent *Candida tsukubaensis* CBS 6389, *Filobasidium capsuligenum*[65], *Lipomyces kononenkoae*[66], *Lipomyces starkeyi*[67], *Saccharomycopsis bispora* [68], *Saccharomycopsis capsularis*, *Saccharomycopsis fibuligera*[69], *Schwanniomyces castellii*[70], et *Trichosporon pullulans*[71]. Par ailleurs, les enzymes cellulolytiques indispensables à l'hydrolyse de la lignocellulose sont produites par *Trichoderma reesei*. Ce champignon est apte à métaboliser les pentoses et les hexoses, de plus, il est insensible aux molécules inhibitrices générées dans les matériaux lignocellulosiques[72].

3.4.2.2 Microorganisme producteurs d'éthanol :

Plusieurs rapports et articles de revue ont été publiés sur la fermentation alcoolique effectuée par les levures (**tableau 1**). Cependant, *Saccharomyces cerevisiae* qui se développe sur des milieux à base de sucres simples et/ou disaccharides, est reconnu comme un agent qui ne représente aucun risque sur la santé humaine. En plus, cette espèce reste la première à être exploitée en industrie à travers le monde, grâce à sa résistance aux conditions de production et aux conditionnements industriels.

Tableau 1 :Souches de levures produisant l'éthanol comme produit majeur de fermentation[73]

Levures	Source de carbone (g/L)	Source d'azote (g/L)	Concentration de l'éthanol (g/L)	Références
27817 <i>S. cerevisiae</i>	Glucose (50- 200)	Peptone (2), sulfate d'ammonium (4)	(5,1-91,8)	Vallet <i>et al.</i> , (1996)
30017 <i>K.fragilis</i>	Glucose (20- 120)	Peptone (2), sulfate d'ammonium (4)	48,96 (max)	Vallet <i>et al.</i> , (1996)
30016 <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Glucose (100)	Peptone (2), sulfate d'ammonium (4)	44,4 (max)	Vallet <i>et al.</i> , (1996)
30091- <i>Candida utilis</i>	Glucose (100)	Peptone (2), sulfate d'ammonium (4)	44,4 (max)	Vallet <i>et al.</i> , (1996)
27774- <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Glucose (20- 120)	Peptone (2), sulfate d'ammonium (4)	48,96(max)	Vallet <i>et al.</i> , (1996)
30017- <i>Kluyveromyces fragilis</i>	Glucose (20- 120)	Peptone (2), sulfate d'ammonium (4)	48,96(max)	Vallet <i>et al.</i> , (1996)
<i>S. cerevisiae</i>	Sucre (150-300)	--	53 (max)	Roukas, (1996)
<i>S. cerevisiae</i>	Saccharose (220)	Peptone(5), dihydrogène phosphate d'ammonium (1,5)	96,71	Caylak et Vardar, (1996)
L-041- <i>S. cerevisiae</i>	Saccharose (100)	Sulfate d'ammonium (24)	50 (max)	Leticia <i>et al.</i> , (1997)
ATCC-32691 <i>Pachysolen tannophilus</i>	Glucose(0-25), xylose (0-25)	Peptone(3,6), sulfate d'ammonium (3)	7,8 (max)	Sanchez <i>et al.</i> , (1999)
ATCC-24860 <i>S.cerevisiae</i> (aérobie)	Molasse (1,6- 5)	sulfate d'ammonium (0,72- 2)	(5-18,4)	Ergun et mutlu, (2000)
CMI237- <i>S. cerevisiae</i>	Sucre (160)	sulfate d'ammonium (0,5)	70(max)	Navarro <i>et al.</i> , (2000)
V5- <i>S. cerevisiae</i>	Glucose (250)	--	--	Virginnie <i>et al.</i> , (2001)
181S. <i>cerevisiae</i> (aérobie)	Glucose (10)	Peptone (5)	--	Todor et Tsonka, (2002)
A3- <i>S.cerevisiae</i>	Galactose (20-150)	Peptone,Sulfate d'ammonium, casamino acide (10)	(4,8- 36,8)	Da Cruz <i>et al.</i> , (2003)
L52- <i>S.cerevisiae</i>	Galactose (20-150)	Peptone,Sulfate d'ammonium, casamino acide (10)	(2,4- 32)	Da Cruz <i>et al.</i> , (2003)
GCB-K5- <i>S.cerevisiae</i>	Saccharose (30)	Peptone (5)	27	Kiran <i>et al.</i> , (2003)
GCA-II- <i>S.cerevisiae</i>	Saccharose (30)	Peptone (5)	42	Kiran <i>et al.</i> , (2003)
KR- 18 <i>S.cerevisiae</i>	Saccharose (30)	Peptone (5)	22,5	Kiran <i>et al.</i> , (2003)
2399- <i>S.cerevisiae</i>	Glucose (31,6)	Urée (6,4)	13,7 (max)	Yu et Zhang, (2004)

Par ailleurs, la production de l'éthanol à partir du glucose peut être effectuée par diverses bactéries (**tableau 2**).

En effet, la bactérie *Zymomonas mobilis*, vue sa sensibilité aux conditions de fermentation, est beaucoup moins exploitée en plus, elle ne fermente que le glucose, le

fructose et le sucrose. En revanche, *E. coli* est très exploitée car, elle présente plusieurs avantages incluant la capacité de fermenter un large spectre de sucres, l'indépendance de point de vue de facteurs de croissance complexes et l'adaptation aux conditions industrielles (exemple, son utilisation dans la production des protéines recombinantes). Cependant, certains inconvénients déclassent cette bactérie au profit des levures, dans le domaine de bioindustrie, en particulier, sa résistance insignifiante et la perception du public pour son danger imminent [73].

Tableau 2 : Souches de bactéries productrices d'éthanol comme produit majeur de fermentation [73]

Bactéries	Concentration de l'éthanol (Mmol éthanol/Mmol glucose)	Références
<i>Clostridium indoli</i> (pathogène)	1,96	Miyamoto,(1997)
<i>Clostridium sphenoides</i>	1,8	Miyamoto,(1997)
<i>Clostridium sordelli</i> (pathogène)	1,7	Miyamoto,(1997)
<i>Zymomonas mobilis</i>	1,9	Miyamoto,(1997)
<i>Zymomonas mobilis</i> <i>subsp.pomaceas</i>	1,7	Miyamoto,(1997)
<i>Spirochaeta aurantia</i>	1,5	Miyamoto,(1997)
<i>Spirochaeta stenostrepta</i>	0,84	Miyamoto,(1997)
<i>Spirochaeta litoralis</i>	1,1	Miyamoto,(1997)
<i>Erwinia amylovora</i>	1,2	Miyamoto,(1997)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1,1	Miyamoto,(1997)
<i>Streptococcus lactis</i>	1,0	Miyamoto,(1997)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	24 g /L	Ingram <i>et al.</i> ,(1998)
<i>Escherichia coli</i> LY01	40-50 g /L	Dienet <i>al.</i> ,(2003)
<i>Escherichia coli</i> KO11	0,7-0,1	Dienet <i>al.</i> ,(2003)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,94-0,98	Matthew <i>et al.</i> , (2005)

En revanche, la production de l'éthanol à partir de la cellulose peut être effectuée par certaines moisissures incluant *Monilia* sp. [74], *Neurospora crassa* [75], *Neurospora* sp. [76], *Trichoderma viride* [77], *Paecilomyces* sp. [78], *Zygosaccharomyces rouxii* [79] et *Aspergillus* sp. [80].

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les transformations font intervenir des phénomènes biochimiques complexes basés sur plusieurs types de micro-organismes, chacun ayant sa spécificité et son rôle particulier. Parmi les procédés biotechnologiques, la fermentation alcoolique, qui consiste en la transformation par les levures, les sucres du moût en éthanol. La souche de levure joue un rôle majeur dans la transformation alcoolique, mais la composition du moût et le mode de conduite de la fermentation sont aussi très importants. Pour cela on a pris différents articles scientifiques afin de comparer les résultats obtenus entre chaque méthode et micro-organisme utilisé.

1. ETUDE DU POUVOIR FERMENTAIRE DE LEVURES ISOLEES NATURELLEMENT A PARTIR DES DATTES AU SUD D'ALGERIE (APPLICATION A LA FERMENTATION DE DEUX VARIETES DE DATTES COMMUNES DE FAIBLE VALEUR MARCHANDE):

Une étude a été faite par A. Boulal, M. Kihal et A. Meknassipour pour étudier le pouvoir fermentaire de levures isolées naturellement à partir des dattes au sud d'Algérie.

L'échantillonnage a été fait dans deux régions différentes de la wilaya d'Adrar au Sud-ouest de l'Algérie en utilisant deux variétés de dattes (Hmira et Tinaceur) en raison (disponibilité, richesse en sucre et une faible valeur marchande).

1.1 Procédé de production :

Les souches de levure isolées à partir des dattes sont posées dans un milieu enrichi de sucre et les tubes sont laissés 24 heures dans l'étuve à 25°C. Puis, les moûts de dattes ont été préparés et stérilisés dans un autoclave à 110°C pendant 20 minutes. Ensuite, dans chaque flacon 9 ml de suspension de souche ont été ajoutés et enfin la fermentation est conduite dans un bain marie à 30°C avec une agitation.

Afin de suivre l'évolution de la fermentation, des prélèvements chaque 24 heures pour effectuer les analyses physico-chimiques (pH, dosage des sucres totaux, densité, taux de solides solubles et le degré alcoolique) ont été effectués. Après 72 heures, la fermentation est arrêtée. Pour chaque variété de dattes, l'opération de fermentation est répétée trois fois dans le but d'obtenir une valeur moyenne représentative des différentes analyses.

1.2 Interprétation des résultats :

La culture des échantillons des dattes a permis l'isolement des trois souches de levures (S1, S2 et S3) (Figure 8). Les résultats montrent que tous les échantillons de mout de dattes en provenance des différentes localités du Sahara, présentent des aspects de colonies des levures plus ou relativement uniformes.

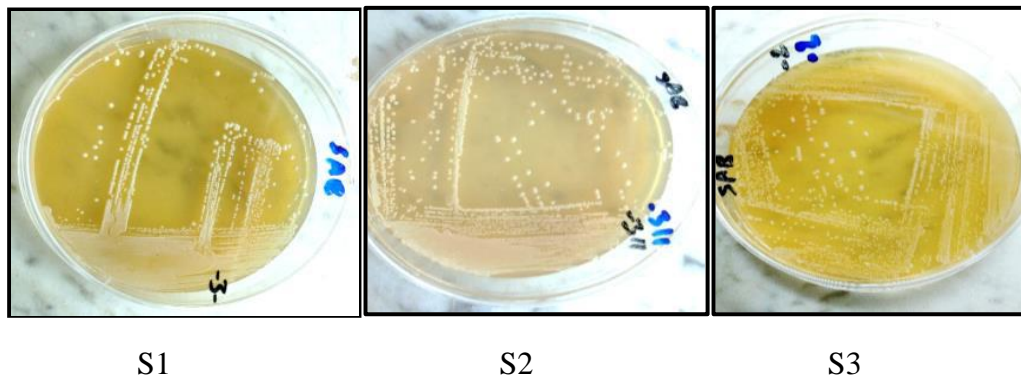


Figure 8 : Purification de la souche S1, S2 et S3 sur milieu sabouroud.

Une légère diminution du pH a été remarqué pour les quatre souches étudiées, cela est dû à la formation de l'alcool. Avec une variation remarquable de S3 par rapport à T, le pH s'est varié de 5.45 à 4.57 pour la S1, à 4.49 pour la S2, 4.23 pour la S3 et à 4.1 pour le Témoin.

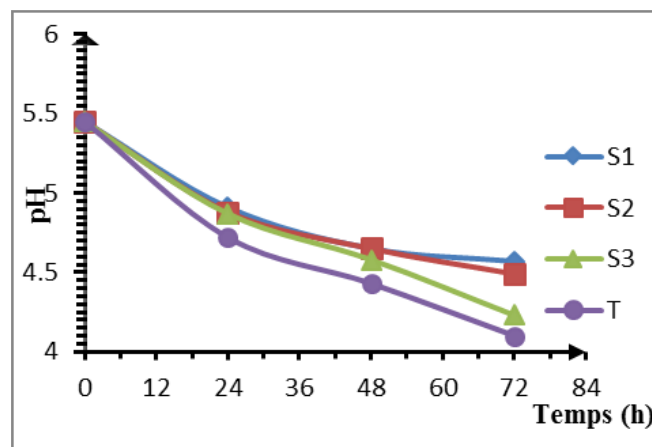


Figure 9: Cinétique classique du pH lors d'une fermentation alcoolique

Une diminution remarquable de la densité au cours du temps pour les quatre souches. Elle varie de 1.075 à 1.029 pour la S1, à 1.021 pour la S2 et S3 et à 1.015 pour le

témoin, ce qui peut être expliqué par la transformation du glucose en alcool et la perte de masse sous forme de CO₂.

Une dégradation remarquable des sucres est observée surtout chez la S3 par rapport au T, tel que la teneur en sucre totaux qui chute de 63.81% à 38.49% pour S1, à 34.77% pour S2 et à 30.44% pour S3 et environ à 17.05% pour la souche T. L'évolution du degré d'alcool durant la fermentation montre que la cinétique de la production d'alcool est proportionnelle au taux de sucre contenu dans les dattes.

Une légère diminution de l'indice de réfraction °Brix qui représente la concentration en saccharose d'une solution aqueuse ayant le même indice de réfraction que le produit à analyser.

Une augmentation considérable a été observée pendant la fermentation, après 72H le degré alcoolique est de 16° pour S1 et 14° pour S2 et 12° pour S3 et 20° pour le Témoin.

2. ETUDE DE LA PRODUCTION D'ETHANOL BIOCARBURANT A PARTIR DES REJETS AGRICOLES :

AssiaMansouri, Rachida Rihani et Nadia Aicha Laoufi ont réalisé une étude sur la production d'éthanol biocarburant à partir des rejets agricoles à savoir : les rebuts de dattes et les résidus de récolte de raisins puisqu'ils sont riches en matières organiques et nutritives.

2.1 Matériels et méthodes :

Pour cela, les fermentations ont été menées par la levure *Saccharomyces Cerevisiae* en batch dans un bioréacteur cylindrique de capacité 5L et dont le couvercle du réacteur est muni de plusieurs tubulures pour le suivi des différents paramètres. Les moûts extraits sont distillés à 78°C.

2.2 Interprétation des résultats :

2.2.1 Caractéristiques du substrat :

Les déchets agricoles utilisés dans ce travail sont issus de déchets de dattes et de raisins. Ces substrats sont riches en matières organiques et nutritives.

Tableau 3: Caractéristique du substrat

Caractéristique :	Déchets dattes :	Déchets de raisins :
pH	5,08 ± 0,01	3,28± 0,01
NH4 (g/L)	1,68	1,6
Sucres totaux (g/L)	153,61 ± 0,1	166,69± 0,1
Brix (%)	10,5	15,75

Une variation de pH en deux phases a été remarquée : une diminution puis une croissance.

La diminution du pH est rapide : il passe de 4,5 à 3,71 pour le substrat dattes et de 4,5 à 3,92 pour le substrat raisins et ce après 24h de fermentation, cet abaissement peut être expliqué par le fait que le milieu est acidifié à cause de la production du dioxyde de carbone lors de la fermentation. La deuxième phase est une croissance mais légère pour les deux substrats qui se poursuit jusqu'à 4. Cette augmentation est due à la production d'éthanol et à la présence dans le milieu de l'acide carboxylique.

Les deux substrats ont montré une diminution de la teneur en sucres totaux pour atteindre une concentration d'environ 100 g/L pour les dattes et de 70g/L pour les raisins. Ces résultats sont prévisibles sous prétexte que les levures assimilent le sucre pour produire les alcools.

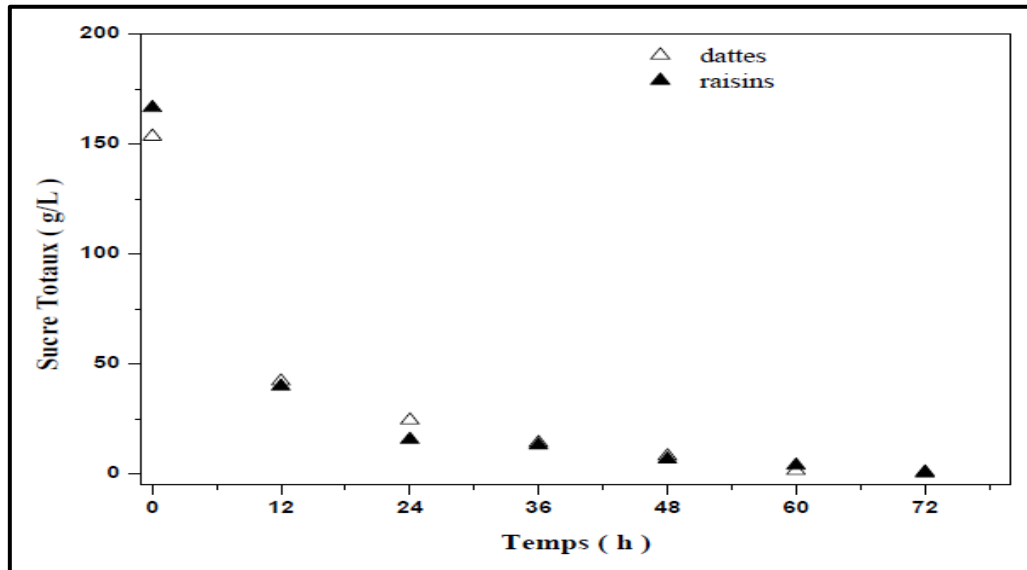


Figure 10 : évolution temporelle des sucres totaux

Une augmentation rapide de l'éthanol au cours de la fermentation (l'atteinte de 103g/l pour les dattes et 75g/l pour les raisins). Et puis, un régime permanent est maintenu, là où la production a atteint ses limites.

3. TRANSFORMATION DES DECHETS DE DATTES DE LA REGION D'ADRAR EN BIOETHANOL :

L'expérience faite par A. Boulal, B. Benali, M. Moulai et A. Touziconsiste à produire le bioéthanol à partir des déchets de dattes de la région d'Adrar.

Pour ce, deux catégories de matières sont utilisées : matière végétale à savoir les deux variétés de dattes (Hmira et Tinaceur) et le fruit de dattes formé après une mal fécondation (Kaciene). Et la matière biologique qui est la levure de boulangerie sèche.

3.1 Matériels et méthodes :

Cette expérience est effectuée en trois étapes : étape de préparation, étape de fermentation et enfin une étape de distillation.

La préparation du matériel utilisé dans cette étude a commencé d'abord par laver les dattes qui ont subi après une imbibition, un broyage et une dilution après un traitement pour l'ajustement du pH.

Une phase de fermentation est conduite en plongeant le bio réacteur dans un bain-marie à une température de 30 ± 2 °C. Pour le suivi de l'évolution de ce processus, des prélèvements sont effectués chaque 24h afin de mesurer le pH, la densité, le taux de cendres, le dosage des sucres totaux et le degré alcoolique. Cette opération est répétée trois fois.

A la fin de la fermentation, les chercheurs ont distillé le vin de dattes obtenu pour extraire l'éthanol à une température d'environ 78°C.

3.2 L'interprétation des résultats :

Les résultats de cette étude ont montré une différence dans les caractéristiques cinétiques des différentes variétés de dattes.

Les résultats montrent que les deux variétés Hmira et Kaciene ont presque le même effet sur le pH après 72h.

Tableau 4 : Dégradation temporelle du pH

	Hmira	Tinaceur	Kaciene
pH	4.5 vers 3.88	4.5 vers 3.71	4.5 vers 3.87

On constate que les trois variétés donnent les mêmes mesures de densité : une diminution trop légère de la densité de 1.07 vers 1.02 pour Tinaceur et Kaciene et 1.01 pour Hmira.

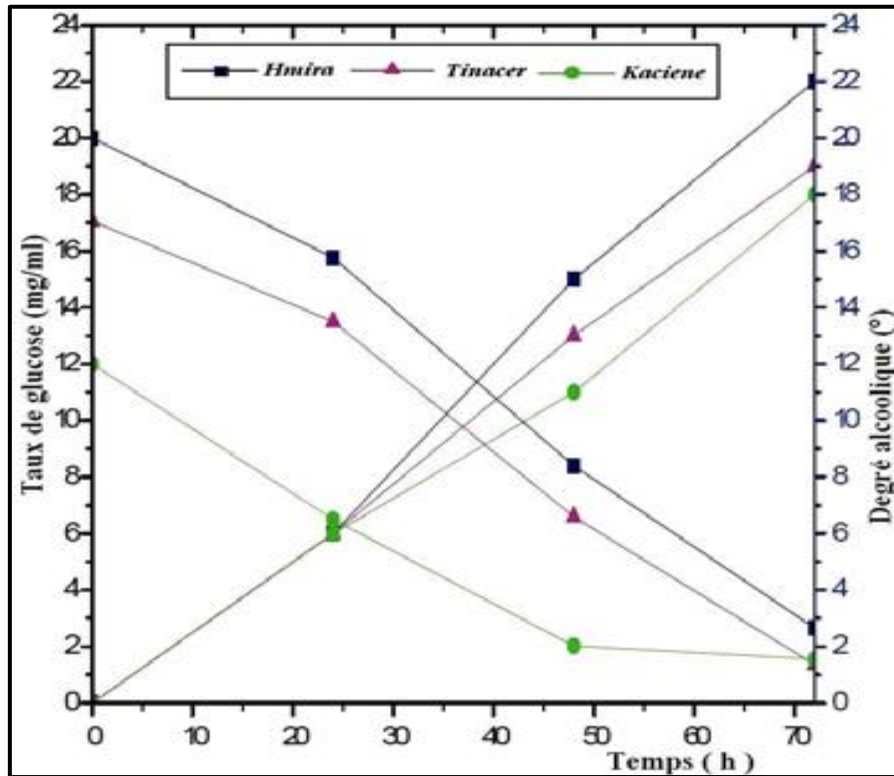


Figure 11 : Courbes d'évolution du taux de glucose et du degré alcoolique au cours de la fermentation

Il est clairement remarquable que le glucose ait été consommé rapidement pour les trois types de dattes mais pas entièrement. On voit que pour la variété Hmira, le glucose est abaissé de 20 mg/ml à 2.65 mg/ml pendant 72h. Pour les dattes Tinaceur, il s'est abaissé de 17.06 mg/ml vers 1.36 mg/ml avec une réduction de 15.7 mg/ml pendant 72h. Enfin, les dattes Kaciene, étant donné que le taux initial était 12 mg/ml, la consommation n'était pas vraiment considérable en la comparant par rapport aux deux autres variétés.

La production de l'alcool augmente durant les 48 dernières heures de la fermentation ce qui implique la proportionnalité entre la consommation du glucose et la production de l'éthanol qui atteint 22 ° alcoolique pour la variété Hmira, 19° pour Tinacer et 18° pour la variété kaciene.

4. VALORISATION DE DECHETS DE DATTES TUNISIENNES : PRODUCTION DE BIOETHANOL :

Dans le but de valoriser les déchets de dates tunisiennes, Sofien Chniti, Abdeltif Amrane, Yvane Lelievre, Hayat Djelal, Hédia Chaabane et Mnasser Hassouna ont fait une expérience pour la production de bioéthanol à partir de ces déchets.

4.1 Matériels et méthodes :

Dans ce contexte, et pour réaliser l'expérience ils ont commencé par collecter les déchets de dattes tunisiennes (Deglet-Nour). Après ça, ils ont procédé d'abord par sécher de pulpe / sirop pour obtenir les caractéristiques physico-chimiques désirées.

La souche utilisée au cours de ce travail est la levure *Saccharomyces cerevisiae*, qui est conservée à 4°C.

deux catégories de milieux ont été préparés, des milieux synthétiques à base de sucres simples (glucose, fructose, saccharose), et des milieux à base de déchets de dattes (extrait de jus obtenu à partir des déchets de dattes)

Les dattes sont d'abord lavées puis dénoyautées et ensuite découpées en petits morceaux. On leur ajoute de l'eau et on filtre le jus obtenu et on le conserve à 4°C. Les moûts de dattes doivent être dilués puis centrifugés. Enfin, on enrichit le milieu en sels minéraux et on le stérilise.

4.2 Interprétation des résultats :

Tableau 5 : Caractéristiques chimiques de déchets de dattes *Deglet-Nour*

	Pulpe	Sirop
Matière sèche (%)	78,53 ± 0,05	73,65 ± 0,67
pH	5,5 ± 0,08	4.34 ± 0.02
Acidité titrable (g /100 g du poids sec)	0,27 ± 0,01	0,22 ± 0,03
Protéines (g / 100 g du poids sec)	0,34 ± 0,01	0,97 ± 0,02
Cendre (%)	0,61 ± 0,11	1,49 ± 0,52
Matière grasse (%)	0,19 ± 0,05	0,03 ± 0,02

Le taux de protéines du sirop de dattes Deglet-Nour (72°Brix) est de 0,97 g /100g de matière sèche)(**Tableau 5**), inférieur à la valeur citée par Besbes et al. [81].

De nombreux auteurs dont Saafi et al. [82], affirment que la datte renferme une teneur en cendre comprise entre 1,5 et 4%, alors que le taux de cendre des déchets de dattes de cette étude, semble faible, probablement à cause de microorganismes qui contaminent les déchets prélevés au sein de l'unité tunisienne de conditionnement des dattes ALKHALIGI

Durant la première phase, la levure a bien dégradé le glucose et le fructose. De plus, L'augmentation de fructose et la diminution du taux de saccharose dans le milieu après 24 heures de fermentation, montre que le saccharose est hydrolysé par les levures. Les trois sucres sont ensuite assimilés dans la seconde partie de la croissance jusqu'à leur épuisement en fin de culture.

Une faible production des deux principaux métabolites : éthanol et glycérol.

Pour les deux types de milieux utilisés, l'éthanol obtenu est inférieur à l'éthanol théorique mais le milieu à base de mélange de sucres, présente un taux de conversion très faible (15,8%), alors que le milieu de culture à base de sirop de dattes présente un taux de conversion élevé (88,8%).

5. OPTIMISATION DE LA PRODUCTION D'ETHANOL PAR LES TECHNIQUES D'HYDROLYSE DE L'AMIDON DE MANIOC ET LA FERMENTATION DE LA LEVURE DE BIÈRE (SACCHAROMYCES CEREVISIAE) :

NWAGA Dieudonné, OMOLOKO Cécile, KOUAM Emile et WU Jihuang ont fait cette expérience pour évaluer les paramètres optimums pour la production d'alcool à partir de l'efficacité d'hydrolyse de l'amidon Et pour ce, ils ont pris la farine de manioc comme un substrat.

Une souche d'*Aspergillus niger* provenant de l'Université de Zeijiang en Chine est repiquée sur milieu PDA en gélose inclinée de composition suivante en g/l: pomme de terre 200 g, saccharose 20g, agar-agar 20 g et eau distillée 1L. Le pH est ajusté à 6 et la température d'incubation est de 30°C. et enfin elle est conservée à 4°C.

Trois méthodes d'hydrolyse ont été testées à savoir une hydrolyse chimique, une hydrolyse mixte et une hydrolyse enzymatique.

Les fermenteurs sont constitués d'erlenmeyers de 2L de capacité. Le moût est préparé en enrichissant 250 ml d'hydrolysate d'amidon par 1 g/l de sulfate d'ammonium dans un pH ajusté à 6.

Pour étudier l'influence d'un facteur, tous les autres sont maintenus constants.

La distillation se fait en introduisant 250 ml de vin de fermentation dans un chauffe-ballon jusqu'à ébullition. Ensuite, on réfrigère 100 ml de substrat et on évalue la teneur en eau.

Toute expérience est répétée trois fois pour pouvoir calculer la moyenne de la donnée en question.

5.1 Interprétation des résultats :

5.1.1 Influence de la méthode d'hydrolyse sur les sucres du moût:

L'hydrolyse chimique fournit le rendement le plus faible (30.8%) contrairement à l'hydrolyse mixte qui donne le rendement le plus élevé (82 – 84 %). Et, l'hydrolyse enzymatique fournit un rendement moyen (66 -67 %).

5.1.2 Influence de la concentration en amidon sur la production d'éthanol :

Lorsque la teneur en amidon augmente de 50 à 250 g/l, la teneur en alcool augmente aussi, sauf pour les traitements impliquant une hydrolyse enzymatique seule. Les résultats montrent que l'hydrolyse chimique est la plus efficace.

5.1.3 Influence de la concentration en amidon sur le rendement de la production d'alcool :

Le rendement de production d'alcool augmente avec la concentration en amidon de 50 à 150 g/l pour tous les traitements sauf pour l'hydrolyse chimique où elle atteint 200 g/l de substrat.

5.1.4 Influence des facteurs physico-chimiques pour optimiser la production d'alcool

Température :

La température optimale pour la production d'alcool se situe autour de 30°C et permet d'obtenir près de 71 g/l d'alcool. Lorsque la température augmente à 45°C, la production d'alcool baisse à 42 g/l. Il est donc possible d'obtenir des quantités élevées d'alcool à température ambiante.

pH : Les pH très acide (pH=1) ou très alcalin (pH=12) sont défavorables à la production d'alcool. La production d'alcool augmente de pH 1 à pH 6 où elle atteint son optimum de 71 g/l et baisse pour les pH 9 et 12.

5.2 Résultats :

Le rendement le plus élevé pour la production d'éthanol provient de l'hydrolyse mixte (chimique et enzymatique) de 150 g/l d'amidon de manioc.

L'évolution du rendement de la fermentation montre que, à 150 g/l de substrat, la teneur en alcool augmente, mais le rendement baisse.

L'hydrolyse mixte donne les meilleurs résultats, même aux fortes teneurs en substrat mais en tenant compte de la durée, de la complexité de son processus et de son coût financier et énergétique, il paraît plus rentable d'utiliser l'hydrolyse enzymatique.

La durée de fermentation joue un rôle majeur sur le coût de production de l'alcool.

6. ÉVALUATION DU POUVOIR FERMENTAIRE DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE ET DE S. CARLSBERGENSIS DANS LA PRODUCTION DE BIOETHANOL A PARTIR DU JUS DE LA POMME CAJOU :

L'étude faite par Virginie GBOHAIDA, Issiakou MOSSI, Euloge S. ADJOU, C. Pascal AGBANGNAN DOSSA, D. Valentin WOTTO, Félicien AVLESSI et Dominique C. K. SOHOUNHLOUE¹ consiste à évaluer le pouvoir fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* et celui de *S. carlsbergensis* dans la production de bioéthanol à partir du jus de la pomme cajou.

6.1 Matériels et méthodes :

La préparation du matériel utilisé dans cette étude a commencé d'abord par la collecte des pommes cajou du centre-Bénin et l'extraction des jus. L'inoculum, est ensuite préparé à partir des trois souches levuriennes *Saccharomyces cerevisiae* (Angel brand super alcohol, Angel super alcohol et Angel brand Thermal-tolerant alcohol) et de *Saccharomyces carlsbergensis* en introduisant 1,0 g de chaque souche dans 9 ml d'eau peptonée tamponnée. Et enfin, une préfermentation a été faite par l'introduction de l'inoculum dans 1/10 du volume total de jus stérile et l'agitation continue pendant une journée. Le mélange obtenu par ce processus a été ajouté au 9/10 du volume restant. Cette étape de fermentation a été clôturée par l'ajout de l'urée à une concentration de 4g/L.

Après avoir préparé tout le matériel végétal nécessaire pour poursuivre l'étude, un témoin a subi une fermentation alcoolique discontinue en le maintenant à 25°C pendant huit jours. Des prélèvements journaliers ont permis de constater l'évolution des facteurs physico-

chimiques tels que le pH et la densité. A la fin de ce processus, une distillation à 79°C a conduit à l'extraction de l'éthanol contenu dans les moûts fermentés.

6.2 Interprétation des résultats :

Les résultats de cette étude ont montré une différence dans les caractéristiques cinétiques des moûts enrichis à l'urée et ceux qui ne le sont pas.

Moûts non enrichis à l'urée :

pH : une variation non significative est observée pendant le premier jour de fermentation, puis une décroissance rapide qui se termine par une stabilité dans les 4 derniers jours.

Acidité : on constate une croissance légère dans les trois premiers jours suivie par une stabilité dans la deuxième moitié de la durée de fermentation.

Degré Brix : le suivi de ce paramètre montre une décroissance rapide qui atteint un régime permanent après 48 heures de fermentation.

Densité des moûts : les résultats obtenus au niveau de la densité des moûts montrent un abaissement logarithmique caractérisé par l'apparition de trois phases.

Moûts enrichis à l'urée :

pH : pendant les 2 premiers jours, on remarque une diminution légère du pH, puis une diminution exponentielle et une phase de stabilité à la fin de la fermentation.

Acidité : le suivi de l'acidité des souches levuriennes enrichis à l'urée a montré une évolution rapide de ce facteur.

Degré Brix : on remarque deux phases de diminution : progressive (24 h) puis rapide jusqu'à atteindre un seuil de 3.8° Bx.

Densité des moûts : contrairement au degré Brix, la densité décroît d'une façon semi-linéaire.

Effet de l'urée sur l'évolution du processus de fermentation : Les résultats explicités précédemment, montrent l'efficacité de l'ajout de l'urée dans les échantillons à analyser. Ceci a augmenté le degré Brix ce qui implique une influence significative sur les paramètres cinétiques des moûts : la fermentation se finit dans trois jours pour les moûts enrichis alors que les moûts non enrichis prennent jusqu'à 5 jours pour atteindre la limite de fermentation.

6.3 Production d'éthanol et durée moyenne de fermentation :

Cette étude a permis de constater que les meilleurs degrés alcooliques sont obtenus au niveau des souches levuriennes choisies et moûts non enrichis à l'urée, contrairement à la fermentation qui a marqué le plus faible degré alcoolique.

7. ÉTUDES COMPARATIVE :

Selon **A. Boulal et al. (2016)** ont démontré qu'il existe des levures isolées naturellement sur le mout de dattes utilisé (Hmira et Tinaceur) avec un pouvoir fermentaire considérable dans les conditions idéale pH = 4,5 , après 72 heures une dégradation de sucres qui va jusqu'à 17,05% et une rapide production d'éthanol qui arrive jusqu'à 20° avec une densité de 1,020 ont été noter. **B. Benali et al. (2010)** ont suivis une fermentation alcoolique dans un bio réacteur en utilisant une levure sèche *Saccharomyces cerevisiae* et trois variétés de dattes (Hmira , tinaceur , Kacienne) dans les conditions idéale pH= 4,5, après 72 heures on remarque comparé à l'étude précédente qu'il y a une grande dégradation importante de sucres 13,25 % avec une densité de 1.01 et un degré alcoolique plus haut 22°.

D'après **BoulbabaLouhichi et al. (2012)** la concentration levure joue un rôle cruciale dans la production du bio éthanol, 3 variétés de dattes (Eguoua , Kunta , Bouhatem) ont été utiliser pour une fermentation à un pH égale a 4,5 en utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Une dégradation de sucres égale pour les 3 variétés qui est de 32,5 % et une production de 25°. On remarque que plus la concentration de levure est élevé plus la production d'éthanol augmente sachant que pour 50g/l de levure, 20,11 ° d'éthanol a été produite.

Sofien CHNITI et al. (2012) ont prouvé l'importance du substrat pour la production du bio éthanol avec une fermentation en discontinu à partir de jus de dattes (deglet noir) avec la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Deux milieux de cultures en été étudié à des pH = 4.5 . Un milieux synthétiques à base de sucres simples qui a donner une dégradation de sucres très faible 72.5% et une concentration finale d'alcool 1.9 g/l alors qu'un milieux à base de sirop de dattes donne une dégradation presque totale de sucres à 02% et une production d'éthanol de 40g/l. **NWAGA Dieudonné et al. (2008)** ont utilisé les techniques d'hydrolyse de l'amidon de manioc (chimique, enzymatique, mixte) avec la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*) dans les conditions optimum pH=6 à une température de 30 ° C et 50g/l de sucre avec une de production d'alcool de 70g/l plus importante comparé à l'étude précédente qui été de 40g/l. tant dis que l'étude de **Assia MANSOURI et al. (2015)** qui ont utilisé la même levure avec une fermentation alcoolique dans un bioréacteur de deux substrat différents (dattes, déchets de raisins) avec des conditions idéale pH = 4.5 et à température 30

° C ont remarque une production d'éthanol de 103 g/l pour les dattes comparé à 70g/l pour les déchets de raisins.

Virginie GBOHAIDA et al. (2016) ont testé le pouvoir fermentaire de deux levures (*Saccharomyces cerevisiae* et de *S. carlsbergensis*) dans la production du bioéthanol à partir de jus de pomme cajou dans les conditions idéale pH = 4.5 et à température 20 ° C avec deux mout, le premier enrichis à l'urée et l'autre non enrichis à l'urée. Les souches enrichis à l'urée ont été plus efficace comparé à la fermentation sauvage non enrichis à l'urée pour la production du bioéthanol, pour le mout enrichis à l'urée pour *Saccharomyces cerevisiae* 160g/l et 145g/l pour *S. carlsbergensis* comparé au mout non enrichis pour les deux levures 50g/l. L'ajout de nutriment favorisent considérablement la production du bioéthanol.

CONCLUSION

Conclusion :

Le bio éthanol qui va être de plus en plus utilisé dans le monde, et ce par l'augmentation des prix des carburants, et du tarissement des réserves d'hydrocarbures. Ainsi de nouvelles unités de production de bio éthanol verront le jour, un substrat de choix est indispensable pour la mise en place de procédés de fabrication industriel, tel que le marc de raisin et les dattes.

Lors de la comparaison de différentes études l'efficacité de la production d'éthanol dépend du mode de conduite de la fermentation.

La souche de levure à un rôle crucial dans la transformation alcoolique. L'augmentation de la concentration d'éthanol va de pair avec le développement de la levure, alors que la concentration de sucre diminue à son tour.

Le rendement de la production est déterminé par différents paramètres tel que : la Température, le pH ainsi que la biomasse et la composition utilisés.

Références bibliographiques :

1. G.K. Kafle, S. Bhattarai, S.H. Kim, L. Chen, Anaerobic digestion of Chinese cabbage waste silage with swine manure for biogas production: batch and continuous study, *Environmental Technology*, 35(2014) 2708-2717.
2. (Ballesteros, 2001). Aprovechamiento Biotecnologico de Residuos Agrarios. Récupéré sur http://coli.usal.es/web/educativo/biotec_microb/temas/47isabelmateosmoreno.pdf.
3. <https://www.raisinor-bioethanolavance.com/marc-raisin>
4. <https://www.dieti-natura.com/plantes-actifs/marc-de-raisin.html>
5. Kuznik N. Communication personnelle: entretien avec Nicolas Kuznik - ingénieur chargé d'études chez Grap'Sud. 23 avril 2015.
6. Vignaud P. Evaluation des gisements et des débouchés des composts en LanguedocRoussillon. Bilan 2006 - Prospective 2010. ADEME - Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie - Délégation Régionale Languedoc-Roussillon, 2006.
7. Roati, C., Fiore, S., Ruffino, B., Marchese, F., Novarino, D., Zanetti, M.C., 2012. Preliminary Evaluation of the Potential Biogas Production of Food-Processing Industrial Wastes. *American Journal of Environmental Sciences* 8, 291–296.
8. Mendes, J.A.S., Xavier, A.M.R.B., Evtuguin, D.V., Lopes, L.P.C., 2013b. Integrated utilization of grape skins from white grape pomaces. *Industrial Crops and Products* 49, 286–291.
9. Arvanitoyannis, I.S., Ladas, D., Mavromatis, A., 2006. Potential uses and applications of treated wine waste: a review. *International Journal of Food Science & Technology* 41, 475–487.
10. Villaescusa, I., Fiol, N., Martínez, M., Miralles, N., Poch, J., Serarols, J., 2004. Removal of copper and nickel ions from aqueous solutions by grape stalks wastes. *Water Research* 38, 992–1002.
11. Bertran, E., Sort, X., Soliva, M., Trillas, I., 2004. Composting winery waste: sludges and grape stalks. *Bioresource Technology* 95, 203–208.
12. Pala, M., Kantarli, I.C., Buyukisik, H.B., Yanik, J., 2014. Hydrothermal carbonization and torrefaction of grape pomace: A comparative evaluation. *Bioresource Technology* 161, 255–262.
13. Kreger-Van-Rij N.J.W. (1984). *The yeasts, a taxonomic study*. Elsevier Sci Publ, Amsterdam.
14. Phaff H.J., Miller M.W. & Mrak E.M. (1978). *The life of yeast*. Harward Unversity Press. Cambridge, London.
15. Bonaly R. (1990). Morphologie et reproduction asexuée des levures. In «Larpent J. P. ed., *Biotechnologie des levures*, Masson, Paris, 426 p.»
16. Lo Presti F., Riffard S., Meugnier H., Reyrolle M., Lasne Y., Grimont, P.A.D.... & Freney J. (2001). *Legionella gresilensis* sp. nov. and *Legionella beliardensis* sp. nov., isolated from water in France. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 1949–1957.
17. Rose A.H. & Harrison J.S. (1987). *The yeasts*. Volume 3., Academic Press., London.

18. Lachance M.A., Rosa C.A., Starmer W.T., Schlag-Ealer B., Barker J.S.F. & Bowles M. (1998).
19. Lachance M.A., Starmer W.T., Rosa C.A., Bowles J.M., Barker J.S. & Janzen D.H. (2001). Biogeography of the yeasts of ephemeral flowers and their insects. *FEMS Yeast Res*, 1: 1-8.
20. Lachance M.A., Bowles J.M., Wiens F., Dobson J. & Ewing C.P. (2006). *Metschnikowia orientalis* sp. nov., an Australasian yeast from nitidulid beetles. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 2489–2493.
21. Satyanarayana T. & Kunze G. (2009). *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*, Springer Science, New Delhi, 744 p.
22. Rocco K.A., Galligan P., Little K.J. & Spurgash A. (1985). A rapid bioluminescent ATP method for determining yeast contamination in a carbonated beverage. *Food Technology*, 39: 49-52.
23. Baroiller C. & Schmidt J.L. (1990). Contribution à l'étude de l'origine des levures du fromage de Camembert. *Le Lait*, 70: 67-84.
24. Walker G. M. & White N. A. (2005). Introduction to Fungal Physiology. In «Kavanagh K., *Fungi: Biology and applications*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 267 p.»
25. Belin J.M. (1996). Les levures. In «C.M. Bougeois & J.P. Larpent Edit, *Microbiologie alimentaire*, Tec et Doc Lavoisier. Paris. 36 p.»
26. Larpent J.P. (1991). *Biotechnologie des levures*. Ed Masson, Paris, 445 p.
27. Aguilar-Uscanga B. & François J.M. (2003). A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Lett Appl Microbiol*, 37(3): 268-274.
28. Peat S., Turvey J.R. & Doyle D. (1961). The polysaccharides of backer's yeast V.A. Further study of the mannan. *J Chem Soc*, 7: 3918-3923.
29. Gorin P.A.J., Spencer J.F.T. & Eveleigh D.E. (1969). Enzymatic degradation of yeast-cell-wall manns and galactomanns to polymeric fragments containing α (16) linked D mannopyranon residues. *Carb Res*, 2: 387-398.
30. Mc Ellan J.W.L. & Lampin J.O. (1969). Phosphomannane In Enzyme required for the formation of yeast protoplasts. *J Bact*, 95: 967-974.
31. Bacon J.C.D., Farmer V.C., Jones D. & Taylor L.F. (1969). The glucan compounds of the cell wall backer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* considered in relation to its ultrastructure. *Biochem J*, 114: 557-567.
32. Manners D.J. & Masson A.J. (1969). The structure of two glucans yeast cell walls. *F E B S Letters*, 4: 122-124.
33. Suarit R., Gopal P. K. & Sherped M. G. (1988). Evidence for a glycosidic linkage between chitin and glucan in the cell wall of *Candida albicans*. *J Gen Microbiol*, 134: 2359-2368.
34. Lipke N. P. & Ovalle R. (1998). Cell Wall Architecture in Yeast: New Structure and New Challenges. *J Bacteriol*, 180(5): 3735-3740.
35. Klis M. F., Pieterella M., Klaas H. & Stanley B. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Rev*, 23: 234-245.

36. Neumann N.P. & Lampen J.O. (1967). Purification and properties of yeast invertase. *Biochemistry*, 6: 468-475.
37. Schurr A. & Yagile Y. (1971). Regulation and characterization of alkaline phosphate in yeast. *J Gen Microbiol*, 65: 291-303.
38. Arnold W.M. (1981). Enzymes: In Yeast cell envelopes. *Biochemistry Biophysics and Ultrastructure*, 2: 1-46.
39. Barnett J.A. & Robinow C.F. (2002). A history of research on yeasts 4: cytology part I, 1890-1950. *Yeast*, 19: 151-182.
40. Kappeli, O. (1986). Regulation of carbon metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* and related yeasts. *Advan. Microbial Physiol.* 28:181-209.
41. Botton, B. (1991). La physiologie des levures Ds : Larpent J.P., *Biotechnologie des levures*.
42. Barnett, J.A. (1976). The utilization of sugars by yeasts. *Advan Carb Chem Biochemistry.* 32:125-234.
43. Guiraud, J.P. et Rosec, J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. p: 228-235.
44. Oura, E. (1997). Reaction products of yeast fermentations. *Process Biochem.* 12: 19-21.
45. Lei, F., Rotboll, M. et Jorgensen, S.B. (2001). A biochemically structured model for *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biotechnol.* 88: 205- 221.
46. Postma E., Verduyn C., Scheffers A. et Van Dijken J. (1989). Enzymic analysis of Crabtree effect in glucose- limited chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Env Microbiol.* 55 : 468-477.
47. Van Urk, H., Schipper, D., Breedveld, G.J., Mak, P.R., Alexander, S.W. et Van Dijken, J.P. (1989). Localization and kinetics of pyruvate-metabolizing enzymes in relation to aerobic alcoholic fermentation in *Saccharomyces cerevisiae* CBS 8066 and *Candida utilis* CBS 621. *Bioch Biophy Acta (BBA) - General Subjects.* 992 (1):78-86.
48. Verduyn, C., Postma, E., Scheffers, W.A. et Van Dijken, J, P. (1992). Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeasts: A continuous-culture study on the regulation of respiration and alcoholic fermentation. *Yeast.* 8(7):501-517.
49. Feria-Gervasio, D., Mouret, J.R., Gorret, N., Goma, G. et Guillouet, S. (2008) .Oleic acid delays and modulates the transition from respiratory to fermentative metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* after exposure to glucose excess. *Appl Microbiol Biotechnol.* 78(2):319-331.
50. Van Dijken J. P. & Scheffers W. A. (1986). Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts. *FEMS Microbiology Reviews*, 32: 199-224.
51. Lai Q.P. (2010). Utilisation des levures non-*Saccharomyces* en œnologie : études des interactions entre *Torulasporea delbrueckii* et *Saccharomyces cerevisiae* en cultures mixtes. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse.
52. (Ballesteros, 2001). Aprovechamiento Biotecnologico de Residuos Agrarios.
53. Ballesteros, M. (2001). Biocombustibles para el transporte. McGraw-Hill.
54. Hanne, H. (2012). Les marchés de production et de consommation et les prix des biocarburants dans l'Union européenne et le monde.

Source :

http://www.economie.gouv.fr/files/directions_services/dgccrf/documentation/dgccrf_eco/dgccrf_eco9.pdf.

55. Escobar, J. C., Lora E. S., Venturini, O. J., Yanez, E. E., Castillo, E. F. et Almazan, O. (2009). Biofuels: Environment, technology and food security. *Renew Sust Energy Reviews*. 13(6-7): 1275-1287
56. Demirbas, A. (2008). Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. *Energy Conver Manage*. 49(8): 2106-2116.
57. Koga, N. (2008). An energy balance under a conventional crop rotation system in northern Japan: Perspectives on fuel ethanol production from sugar beet. *Agri Ecosy Environ*. 125(1 4): 101-110.
58. Jose, D. (1999). Recent developments in microbial inulinases, its production, properties and industrial applications. *Appl Biochem Biotechnol*. 81: 35–52.
59. Fujita, Y., Ito, J., Ueda, M. et Fukuda, H. (2003). Synergistic saccharification, and direct fermentation to ethanol, of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain codisplaying three types of cellulolytic enzyme. *Appl Environ Microbiol*. 70: 1207–1212.
60. Ohta, K., Hamada, S. et Nakamura, T. (1993). Production of high concentrations of ethanol from inulin by simultaneous saccharification and fermentation using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*. 59: (3)729-733.
61. Nakamura, T., Ogata, Y., Hamada, S. et Ohta, K. (1996). Ethanol production from Jerusalem artichoke tubers by *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J Ferment Bioeng*. 81:564-566.
62. Yuan, W.J., Zhao, X.Q., Ge, X.M. et Bai, F.W. (2008). Ethanol fermentation with *Kluyveromyces marxianus* from Jerusalem artichoke grown in salina and irrigated with a mixture of seawater and freshwater. *J Appl Microbiol*. 105: 2076-2083.
63. Sun, Y. et Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresour Technol*. 83(1):1–11.
64. Hsu, T. (1996). Pretreatment of biomass. In: Wyman C (ed) *Handbook on bioethanol: production and utilization*. Taylor et Francis, Washington DC. pp: 179–212.
65. Aktinson, B. et Mavituna, F. (1991). Upstream processing. In: *Biochemical engineering and biotechnology*. Stockton, New York. pp: 525.
66. de Mot R. et Verachtert, H. (1985). Purification and characterization of the extracellular amylolytic enzymes for the yeast *Filobasidium capsuligenum*. *Appl Microbiol*. 50:1474–1482.
67. Spencer- Martins, I. et Van Uden, N. (1979). Extracellular amylolytic system of the yeast *Lipomyces kononenkoae*. *Eur J Appl Microbiol Biotechnol*. 6:241–250.
68. Kelly, C.T., Moriarty, M.E. et Fogarty, W.M. (1985). Thermostable extracellular α -amylase and α -glucosidase of *Lipomyces starkeyi*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 22:352–358.
69. Ebertova, H. (1966). Amylolytic enzymes of *Endomycopsis capsularis*. II. A study of properties of isolated α -amylase, amyloglucosidase and maltose trans glucosidase. *Folia Microbiol*. 11:422–438.
70. Simoes-Mendes, B. (1984). Purification and characterization of the extracellular amylase of the yeast *Sch. Alluvius*. *Can J Microbiol*. 30:1163–1170.

71. Silla, A.M., Zygora, P.S.J. et Stewart, G.G. (1984). Characterization of *Sch. Castellii* mutants with increased productivity of amylase. *Appl Microbiol Biotechnol.* 20:124–128.
72. Sharma, S.K. (2000). Saccharification and bioethanol production from sunflower stalks and hulls. *Afr J bioetech* (41): 122- 130.
73. Lin, Y. et Tanaka, S. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol.* 69: 627–642.
74. Saddler, J.N. et Chan, M.K.H. (1982). Optimization of *Clostridium thermocellum* growth on cellulose and pretreated wood substrates. *Eur J Appl Microbiol Biotechnol.* 16:99–104.
75. Gong, C.S., Maun, C.M. et Tsao, G.T. (1981). Direct fermentation of cellulose to ethanol by a cellulolytic filamentous fungus *Monilia* sp. *Biotechnol Lett.* 3:77–82
76. Yamauchi, H., Akita, O., Obata, T., Amachi, T., Hara, S et Yoshizawa, K. (1989). Production and application of a fruity odor in a solidstate culture of *Neurospora* sp. using pregelatinized polish rice. *Agric Biol Chem.* 53:2881–2888.
77. Ito, K., Yoshida, K., Ishikawa, T et Kobayashi, S. (1990). Volatile compounds produced by fungus *Aspergillus oryzae* in rice koji and their changes during cultivation. *J Ferment Bioeng.* 70:169–172.
78. Gervais, P. et Sarrette, M. (1990). Influence of age of mycelia and water activity on aroma production by *Trichoderma viride*. *J Ferment Bioeng.* 69:46–50.
79. Pastore, G.M., Park, Y.K., Min, D.B. (1994). Production of a fruity aroma by *Neurospora* from beiju. *Mycol Res.* 98: 25–35.
80. Sugawara, E., Hashimoto, S., Sakurai, Y. et Kobayashi, A. (1994). Formation by yeast of the HEMF (4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2H)-furanone) aroma components in Miso with aging. *Biosci Biotechnol Biochem.* 58:1134–1135
81. S. Besbes, L. Drira, C. Blecker, C. Droanne, H. Attia, Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): Compositional, functional and sensory characteristics of date jam, *Food Chem.*, Vol.112, pp. 406 - 411, 2009.
82. E. B. Saafi, M. Trigui, R. Thaabet, M. Hammami, L. Chour, Common date palm in Tunisia: chemical composition of pulp and pits, *Int. J. Food Sci. Technol.*, Vol.43, pp. 2033-2037, 2008.
83. IFV, 2013. Marcs de raisins, lies de vin et bourbes : Quelle gestion des sous-produits vinicoles
84. OCDE 2012
85. Luiz Augusto Horta Nogueira