

N° d'ordre : ...

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERRI DE TIZI-OUZOU

Faculté des Sciences
Département de Chimie



Domaine : **Science de la matière**

Filière : **Chimie**

Spécialité : **Chimie de l'environnement**

Mémoire de Master

Thème

*Production d'un biocarburant à partir d'une
masse lignocellulosique issue du grignon d'olive*

Présenté par :

BOUTERA Abdenour

Soutenu publiquement, le 12 / 07 / 2022, devant le Jury composé de :

Mr. ELIAS Abdelhamid	Professeur	UMMTO	Président
M^{me} BEKDA Hamida	M .C.A	UMMTO	Examinatrice
M^{me} HATEM Rokia	M.A.A	UMMTO	Encadrant
Mr. LATEB Yacine	M.A.A	UMMTO	Examineur

Session 2021 / 2022

Remerciements

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Appliquée et Génie Chimique (LCAGC) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Je tiens à remercier toute l'équipe du laboratoire de recherche des sous-produits oléicoles.

Aussi, j'adresse mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce projet de fin d'études.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à mon encadreur Madame **R. HATEM** Maitre-assistante classe A à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour tout le temps précieux qu'elle m'a consacré ; Monsieur **A. ELIAS** Professeur à l'université de Tizi-Ouzou pour sa patience , sans son valeureuse contribution ce travail ne verra pas le jour ; Madame **H. BEKDA** maitre de conférences classe A ; Monsieur **Y. LATEB**, Maitre-assistant classe A à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour leurs soutien ; et leurs efforts à mettre à ma disposition tous les moyens nécessaires pour le bon déroulement de ce travail.

J'adresse l'expression de mes sincères gratitudee à Monsieur **R. MOUSSAOUI**, Professeur à l'université de Tizi-Ouzou, pour son soutien précieux.

Dédicaces

Je dédie cet ouvrage

A mes parents qui m'ont soutenue et encouragé durant ces années d'études, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A ma femme qui était à mes côtés, mes enfants, mon frère et mes sœurs.

A toute ma famille pour leur soutien, que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible, Merci d'être toujours là pour moi.

A mes chers amis Mustapha CHEBLI, Saïd MSAÏD, et Khaled SELLAH pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

Ainsi que Ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.

Liste des figures

Figure 1. Fruit de l'olive, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b) [3]	5
Figure 2. Différentes filières de valorisation des grignons d'olives [10]	7
Figure 3. Composition d'une biomasse lignocellulosique d'après [19]	9
Figure 4. Structure chimique de la cellulose [30]	11
Figure 5. Disposition des fibrilles, microfibrilles et cellulose dans la paroi cellulaire végétale [34]	12
Figure 6. Structure de l'hémicellulose [37]	13
Figure 7. Structure chimique de la lignine [41]	14
Figure 8. Les différents procédés de production d'éthanol [52]	17
Figure 9. Schéma simplifié de la production d'éthanol à partir de biomasse [54]	18
Figure 10. Représentation schématique de la matrice de polymères dans laquelle les cellules existent. Le prétraitement de la biomasse par différentes méthodes permet d'éliminer l'hémicellulose et la lignine de cette matrice avant l'hydrolyse [55]	18
Figure 11. Classification des différentes classes de prétraitements de la BLC [48]	19
Figure 12. Schéma simplifié de la vision actuelle de la dégradation enzymatique de la cellulose [78]	22
Figure 13. Schéma d'un système de DA pour la déshydratation de l'éthanol [82, 83]	24
Figure 14. Photo des grignons bruts et broyés	26
Figure 15: cellulose avant et après traitement à l'eau de javel	31
Figure 16: organigramme des expériences de traitement, d'hydrolyse, et de fermentation.	31
Figure 17. Organigramme des procédures d'hydrolyse et de fermentation	32
Figure 18 principales caractéristiques d'une cellule typique de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> [96]	33
Figure 19. FTIR du GO brut et de la cellulose séparée	37
Figure 20: droite d'étalonnage du glucose.	38
Figure 21. Chromatogramme de l'éthanol produit	38
Figure 22. Chromatogramme de l'échantillon de l'éthanol étalon 1% (m/m)	39
Figure 23. Courbe d'étalonnage de l'éthanol	39
Figure 24: histogramme représentatif des taux de formation fermentation de glucose.	41

Liste des tableaux

Tableau 3. Composition chimique du grignon d'olive [11].....	6
Tableau 4. La composition de grignons d'olives en hémicellulose, cellulose et lignine dans la littérature [13].....	6
Tableau 5. Teneur en cellulose, hémicellulose et lignine de divers biomasses lignocellulosiques	10
Tableau 6: Les différents procédés de production d'éthanol [51].....	16
Tableau 7. Caractéristiques des grignons d'olives [92].....	27
Tableau 9. Caractéristiques des grignons d'olive.....	36
Tableau 10:taux de glucose formé par les procédures de traitement et d'hydrolyse.	40
Tableau 11. Taux de sucre fermenté (Tf%)	41
Tableau 12:taux de bioéthanol formé par les différentes procédures.....	42

Abréviations

^{13}C : 13 Carbon.

AFEX : Ammonia fiber explosion/expansion.

ARP : Ammonia Recycle Percolation.

BLC : Biomasse Ligno Cellulosique.

CB : Cellulose Brut.

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse.

DAE : Direction de l'Agriculture d'El-Oued.

DCO : Demande Chimique en Oxygène.

E25 : 25 % d'éthanol et 75 % d'essence.

E5 : 5 % d'éthanol et 95 % d'essence.

FAO : Food and Agriculture Organisation.

FID : Flamme Ionisation Detector.

FTIR : Fourier-transform infrared spectroscopy.

G.O : Grignon d'Olive.

G.O.B : Grignon d'Olive Brut.

G.O.D : Grignon d'Olive Déshuilé.

G.O.N.D : Grignon d'Olive Non Déshuilé.

G.O.S : Grignon d'Olive Séché.

Ha : Hectare.

HI : hectolitre.

IC : Indice de Cristallinité.

IR : Infra Rouge.

MAT : Matière Azoté Totale.

MG : Matière grasse.

MM : Matière Minérale.

MS : Matière Sèche.

NMR : Nuclear Magnetic Resonance.

Qx : quintaux.

TCO : Total Carbon Organic.

TVA : Tennessee Valley Authority

USDA : United States Department of Agriculture.

XRD : X-ray diffraction.

Table des matières

PARTIE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. Généralités sur les sous-produits oléicoles.....	4
1. Oléiculture dans le monde	4
2. L'oléiculture en Algérie	4
3. Composition de l'olive	4
4. Les sous-produits oléicoles.....	5
A. Margines	5
B. Grignons d'olive :	5
5. Composition chimique de grignons d'olives	6
6. Différentes filières de valorisation des grignons d'olives	6
II. La biomasse lignocellulosique (BLC).....	9
1. Définition et ressource de la biomasse lignocellulosique	9
2. Cellulose	10
3. Hémicellulose :	12
4. Lignine :	13
5. Extractibles :	14
III. Procèdes de conversion de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol	15
1. Les biocarburants	15
2. Bioéthanol.....	15
3. Principaux modes de production d'éthanol	16
A. Éthanol non renouvelable : Éthanol synthétique.....	16
B. Éthanol renouvelable de 1 ^{ère} génération	16
C. Éthanol renouvelable de 2 ^{ème} génération	17
4. Procèdes de conversion de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol	17
A. prétraitement de la biomasse lignocellulosique	17
a. Prétraitement physique.....	19
b. Prétraitements chimiques	19
B. Hydrolyse de la biomasse lignocellulosique.....	21
a. Hydrolyse chimique (hydrolyse acide)	21
b. Hydrolyse enzymatique de la biomasse lignocellulosique :	22
C. Fermentation éthanolique	23

D.	Distillation azéotrope.....	23
PARTIE II.	PARTIE EXPÉRIMENTALE	25
I.	Matière végétale.....	26
II.	Méthodes de caractérisation	26
1.	Teneur en eau.....	27
2.	Taux de cendres	27
3.	Taux de matière grasse	28
4.	Teneur en sucres	28
5.	Spectroscopie infrarouge.....	29
6.	Analyse du bioéthanol par chromatographie gazeuse (CPG).....	29
III.	Séparation des constituants lignicellulosiques du grignon.....	30
1.	Déshuilage du grignon	30
2.	Traitement à l'acide sulfurique dilué – séparation de l'hémicellulose	30
3.	Traitement basique – séparation de la lignine	30
4.	Lavage à l'eau de javel – purification de la cellulose	30
5.	Hydrolyse acide de la cellulose	31
A.	Hydrolyse à l'acide chlorhydrique	31
B.	Hydrolyse à l'acide sulfurique :	31
IV.	Fermentation des solutions hydrolysées – production du bioéthanol	32
1.	Procédure de fermentation.....	33
2.	Distillation du bioéthanol	33
PARTIE III.	RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS	35
I.	Analyse et caractérisation.....	36
1.	Caractérisation du grignon :	36
2.	Caractérisation par spectroscopie infrarouge de la cellulose séparée	36
3.	Analyse des sucres – dosage.....	37
4.	Dosage du bioéthanol par chromatographie phase gazeuse	38
II.	Etude des procédures de traitement et d'hydrolyse acide – production des sucres. .	40
III.	Etude de la procédure de la fermentation – production du bioéthanol	40

Introduction générale

L'utilisation excessive des ressources fossiles provoque le réchauffement de la planète et épuise les réserves accessibles de pétrole brut. Les humains ont acquis la technologie nécessaire pour consommer et transformer le pétrole brut et en tirer un large éventail d'avantages, mais cela a également conduit à des émissions massives de dioxyde de carbone dans l'environnement. Si notre société ne se détourne pas de la consommation de pétrole brut et de combustibles fossiles à l'utilisation recyclée de ressources renouvelables telles que la biomasse, il sera difficile d'assurer la durabilité de la vie humaine. La conversion de la biomasse en biocarburants, en produits chimiques, en énergie et en nouveaux matériaux devient vitale pour résoudre ces problèmes [1].

Le bioéthanol représente l'un des biocarburants les plus prometteurs, présentant plusieurs avantages, tels qu'un indice d'octane élevé, un faible indice de cétane, une chaleur de vaporisation élevée et, surtout, une réduction des émissions de gaz à effet de serre.

Les biomasses lignocellulosiques sont les ressources renouvelables les plus abondantes sur Terre. L'utilisation de matériaux lignocellulosiques pour la production d'éthanol de deuxième génération minimiserait le conflit entre l'utilisation des terres pour l'alimentation humaine (et animale) et l'énergie [2].

Ensemble, la cellulose et l'hémicellulose représentent environ 65 % à 75 % de la composition globale de la biomasse lignocellulosique. Ces matières peuvent être décomposées pour former les sucres qui les composent en vue de leur fermentation en bioéthanol.

La biomasse peut être convertie en éthanol par traitements acides ou enzymatiques. Dans les deux cas, la matière doit d'abord être traitée d'une manière ou d'une autre pour réduire sa taille et faciliter sa manipulation ultérieure.

Les sucres sont fermentés en bioéthanol par l'ajout de levures, de bactéries ou d'autres organismes appropriés et l'éthanol est récupéré par distillation ou par d'autres technologies de séparation pour être utilisé comme carburant.

La lignine de la biomasse peut être brûlée pour fournir la totalité de la chaleur et de l'électricité nécessaires au processus ou être convertie en produits chimiques ou en carburants de valeur [3].

Dans le présent travail le grignon d'olive constitue la matière première, et la source des polysaccharides nécessaires à la synthèse du bioéthanol. L'hydrolyse de la cellulose, contenue

dans le grignon d'olive conduit à la dégradation de cette dernière en sucres fermentescibles qui vont se fermenter par la suite pour donner du bioéthanol. Le choix de cette biomasse est basé sur le fait qu'elle est abondante dans notre région ce qui va ouvrir une voie de recyclage.

L'objectif principal de ce mémoire est la recherche de la faisabilité de la conversion de grignon d'olive en éthanol. Pour cela, l'étude est divisée en trois grandes parties :

- Une synthèse bibliographique dans laquelle nous allons présenter des généralités sur les sous produits oléicoles, La biomasse lignocellulosique et les procédés de conversion de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol.
- Une seconde partie est consacrée à l'expérimentation dont nous détaillerons les protocoles élaborés pour la production du bioéthanol.
- Une troisième partie dans laquelle nous interpréterons les résultats trouvés.

PARTIE I. SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les sous-produits oléicoles

1. Oléiculture dans le monde

L'olivier appartient à la famille des oléacées. Le genre est appelé "Olea" et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. L'espèce cultivée en Méditerranée est "l'Oléa europaea", dans laquelle on trouve l'oléastre ou l'olivier sauvage, et l'olivier cultivé "Oléa europaea sativa". Du point de vue variétale, il n'est pas rare de compter plus d'une centaine de variétés d'olivier dans chacun des pays producteurs. Les variétés les plus répandues en Algérie sont : Chemlal, Sigoise, Azeradj, Limli, Blanquette de Guelma. L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud. On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (Benhayoun et Lazzeri, 2007). Selon le Conseil Oléicole International (COI), la superficie oléicole mondiale est estimée en 2012 à environ 11 millions d'ha, dont 78% en sec et 22% en irrigué. Sur l'ensemble de cette superficie, 53% reviennent aux pays de l'Union européenne, 27% aux pays du Maghreb, 18% aux pays du Moyen-Orient et 2% aux pays du continent américain et autres [4].

2. L'oléiculture en Algérie

En Algérie, l'oléiculture joue un rôle économique, social et environnemental important. Le verger oléicole national couvre une superficie de plus 450 mille hectares avec un nombre d'olivier atteignant les 6.200.000 arbres. La production oléicole est estimée à près de 7 millions de quintaux d'olive et de près de 70 000 tonne de l'huile d'olive [5].

3. Composition de l'olive

L'olive est une drupe dont la composition chimique dépend de sa variété, du sol et du climat. Le contenu de l'olive est composé du noyau (17,3%-23%*m*), d'amandon (2%-5,5%*m*), d'épicarpe (2%- 2,5%*m*) et de la pulpe (71,5%-80,5%*m*) (figure 2).

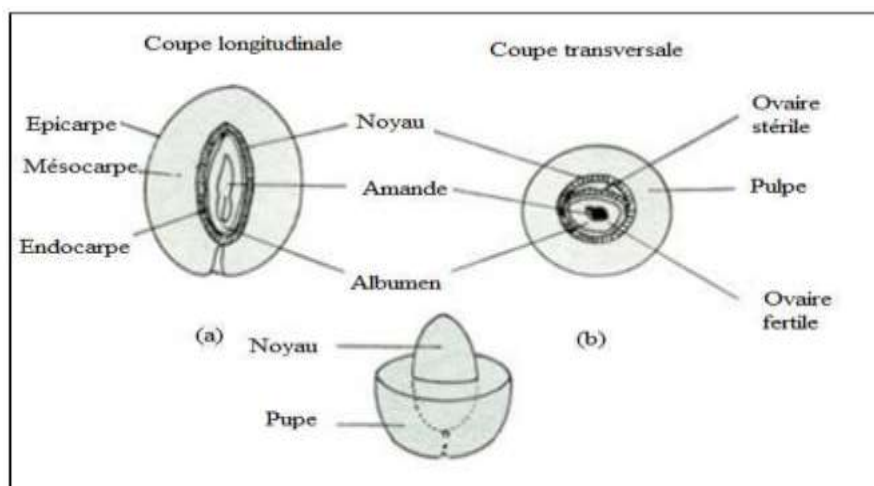


Figure 1. Fruit de l'olive, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b) [6]

4. Les sous-produits oléicoles

L'industrie oléicole, engendre, en plus de l'huile comme produit principal, de grandes quantités de sous-produits. Cent kg d'olive produisent en moyenne 35 kg de grignon et 100 litres de margine [7].

A. Margines

Le procédé d'extraction de l'huile d'olive engendre la production d'effluents liquides, nommés margines ou eaux de végétation. Les margines se présentent sous la forme d'un liquide visqueux ayant une coloration brune noirâtre et une odeur désagréable [8]. Le pressage d'une tonne d'olives avec les modes de production modernes produit en moyenne 1,5 tonnes de margines même si cela varie avec les différents processus d'extraction: lavage préalable des olives ou non, humidification des pâtes durant le pressage. Cet effluent est très toxique car il contient une forte teneur en polyphénol et il a une DCO (100 à 220 kg/m³) (demande chimique en oxygène) et un TCO (carbone organique total) important. Les substances phénoliques, en particulier l'oleuropéine [9], sont potentiellement toxiques et inhibent le développement de certains microorganismes aussi bien en présence ou en l'absence d'oxygène.

B. Grignons d'olive :

Les grignons sont les résidus solides obtenus après le premier pressage des olives. Ils contiennent encore de l'huile appelée huile secondaire. Ils sont composés de peaux, de résidus de pulpe et de fragments des noyaux. Il existe quatre types de grignons : le grignon brut, le grignon épuisé, le grignon partiellement dénoyauté et le grignon humide [10, 6].

5. Composition chimique de grignons d'olives

La composition chimique de grignons varie en fonction des variétés d'olives triturées. Le tableau 3 donne une indication sur cette composition.

Tableau 1. Composition chimique du grignon d'olive [11]

Matière Sèche (MS)	Matières Minérales (MM)	Matières Azotées Totales (MAT)	Cellulose brute (CB)	Matières Grasses (MG)
75-80%	3-5%	5-10%	35-50%	8-15%

Plus simplement, on peut considérer que le grignon est composé par une fraction riche en lignine provenant des fragments de noyaux, et l'autre renfermant principalement des glucides, comme la cellulose et l'hémicellulose et, dans une moindre mesure, des protéines et de l'huile résiduelle qui dépend de la technique d'extraction [12]. Le tableau 4 montre que la lignine représente entre le tiers et la moitié de la masse des grignons d'olives.

Tableau 2. La composition de grignons d'olives en hémicellulose, cellulose et lignine dans la littérature [13]

Auteurs	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignine (%)
Demirbas, 2004	23,6	24	48,4
Jauhiainen <i>et al.</i> , 2005		44	45
Garcia-Ibanez <i>et al.</i> , 2006	21,5	24,3	38

6. Différentes filières de valorisation des grignons d'olives

Les données de la littérature qui décrivent toutes les possibilités de valorisation des grignons sont nombreuses, la figure 3 reprend toutes ces filières

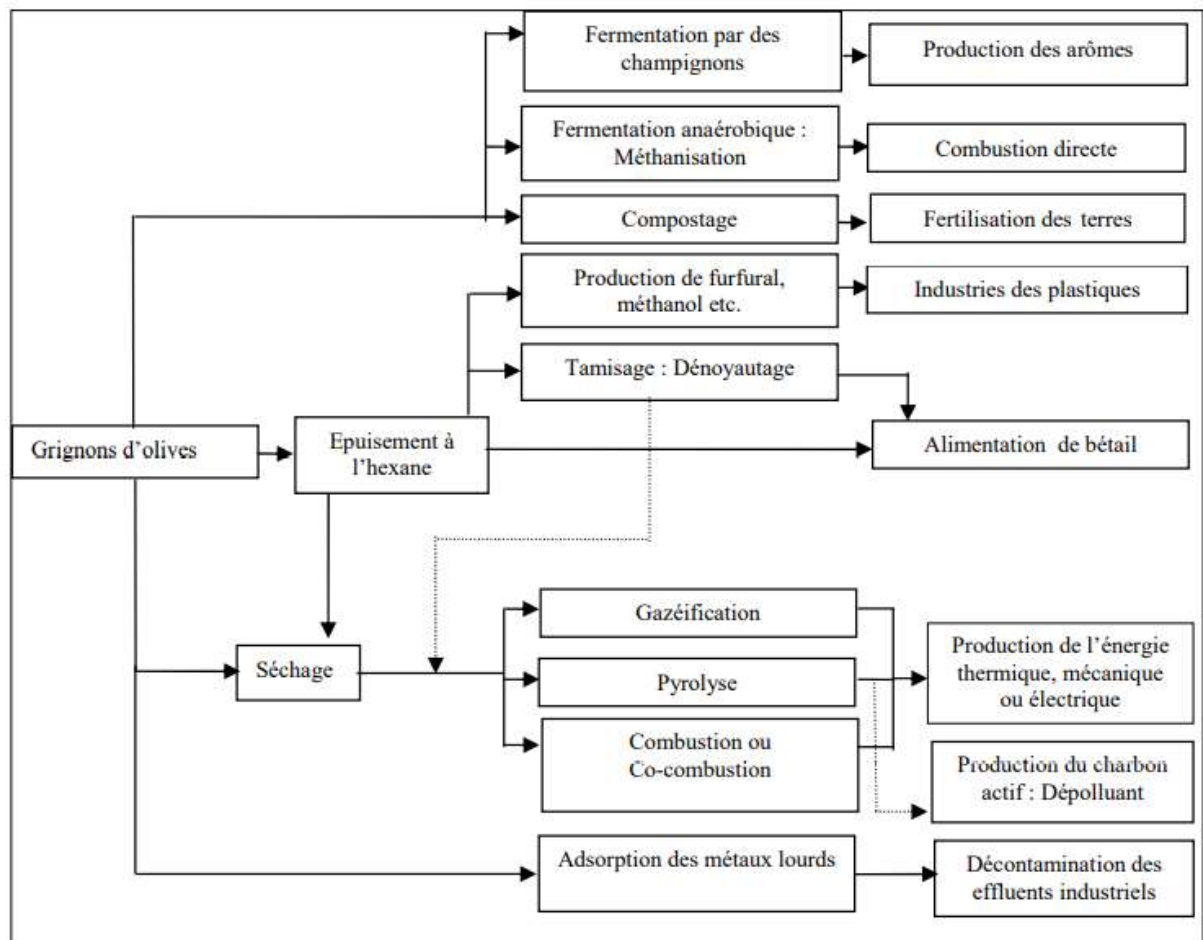


Figure 2. Différentes filières de valorisation des grignons d'olives [13]

La biomasse est une source d'énergie renouvelable qui peut contribuer de manière significative à la réduction de la consommation de combustibles fossiles. L'utilisation de déchets agricoles ou agro-industriels tels que les grignons d'olives est particulièrement pertinente.

- La première étape de valorisation des grignons bruts, quand ils ne sont pas destinés à la fermentation, est l'extraction de l'huile résiduelle par solvant. Cette technique permet la récupération d'au moins 6% d'huile alimentaire appelée souvent « huile de grignons »
- Les grignons épuisés constituent, entre autres une matière première pour la production du furfural. En effet, les débris de coques sont assez riches en pentosanes (hydrates de carbone complexes) qui, par hydrolyse, engendrent des pentoses et après dessiccation du furfural. La même réaction produit du méthanol et de l'acide acétique.
- Dans le domaine agricole, les grignons d'olives peuvent être employés comme fertilisant, après avoir subi une pré décomposition ou un compostage pour faciliter sa

dégradation et éliminer ses effets phytotoxiques [8]. Par ailleurs, l'analyse de la composition de cendres issus de la combustion des grignons d'olives permet de les utiliser comme un fertilisant [14].

- Mieux encore, ce sous-produit de l'industrie oléicole peut être utilisé en tant qu'aliment pour bétail. Les grignons épuisés tamisés (sans noyaux), sont de conservation facile et ont une meilleure valeur alimentaire. Ils constituent des réserves alimentaires disponibles pendant les périodes de disette [8].
- La fermentation des grignons d'olives en milieu solide par des champignons thermophiles et filamenteux produit une panoplie de composés d'arômes d'intérêt dans les domaines agroalimentaires, cosmétiques et même pharmaceutiques [15]. Tandis que la fermentation anaérobie des lisiers de vaches avec des grignons d'olives produit du méthane à 57 - 65% du biogaz produit. Ce méthane est utilisé comme une source d'énergie pour le chauffage de l'eau (direct) et en production de l'électricité à usage domestique (indirect) [16].
- La biosorption des métaux lourds et de phénols par les grignons d'olives est une technologie alternative dans le traitement des eaux usées et de la margine [17, 18]. Cette technique remplace les méthodes conventionnelles qui sont très chères et peu efficaces. (Pagnanelli et al., 2002) [19] a conclu que les grignons d'olives ont une capacité élevée de rétention de plusieurs métaux à savoir, le cadmium, le plomb, le zinc, etc. Cela dit, la valorisation thermique des grignons d'olives constitue l'alternative la plus pertinente pour la réduction de ces sous-produits oléicoles. En effet, des procédés thermiques convertissent ces grignons en énergie utilisable sous différentes formes. Les trois principales conversions thermochimiques des grignons d'olives couramment développées correspondent à la combustion, la pyrolyse, et à la gazéification.

II. La biomasse lignocellulosique (BLC)

1. Définition et ressource de la biomasse lignocellulosique

La lignocellulose est le matériau composant la paroi cellulaire des plantes. Cette biomasse est une ressource renouvelable extrêmement abondante [20, 21]. Les substrats de biomasse lignocellulosique peuvent provenir globalement de trois sources, à savoir les résidus agricoles ou forestiers, les cultures dédiées et les déchets verts [22]. La biomasse lignocellulosique est composée de trois principales fractions. La première, de l'ordre de 35 à 50 %, est la cellulose qui est un polymère de glucose. La seconde, appelée fraction hémicellulosique, de l'ordre de 20 à 30 %, est aussi un polysaccharide, essentiellement constitué de pentoses (dont le xylose et l'arabinose) et de glucose. La troisième est la lignine (15 à 25 %), polymère de structure complexe à base de groupements phényles. [23]

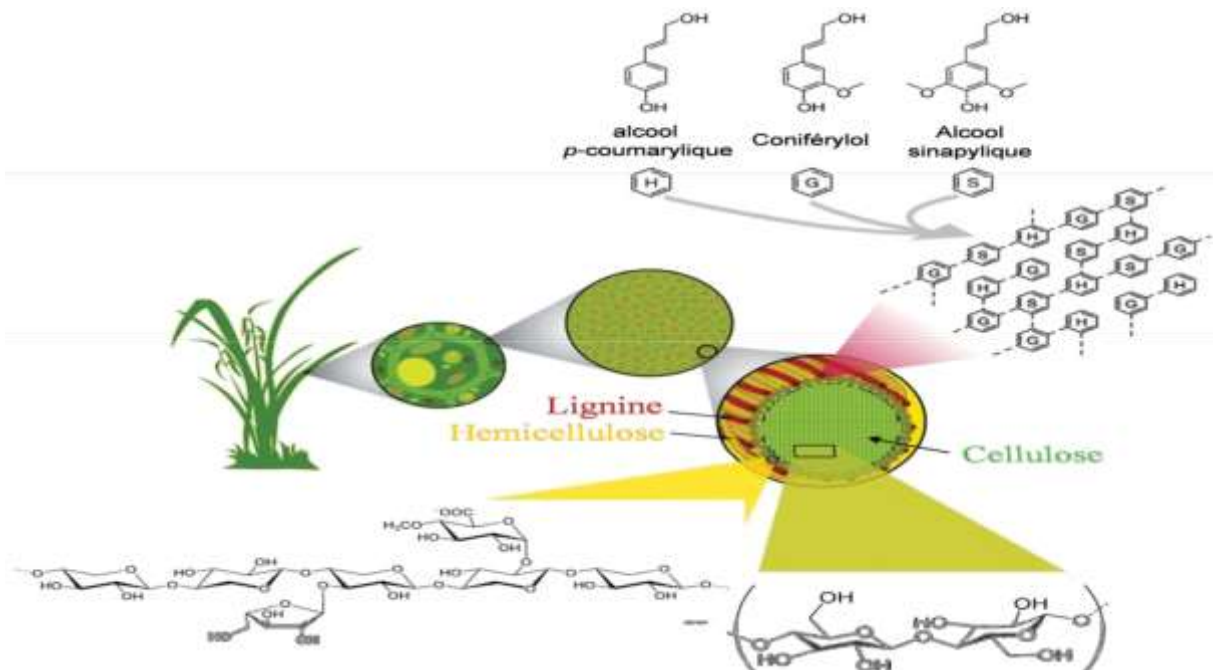


Figure 3. Composition d'une biomasse lignocellulosique d'après [22]

La production mondiale annuelle de biomasse est estimée à 100 milliards de tonnes, dont seulement 3% est cultivée, récoltée et exploitée. La majorité (97 %) est destinée à l'industrie agroalimentaire. Les applications non-alimentaires sont majoritairement dédiées à la production de biocarburants et à l'industrie papetière.

Outre les trois composés chimiques principaux constituant la lignocellulose, l'eau est également présente dans le complexe. De plus, des quantités mineures de protéines, de minéraux et d'autres composants peuvent également être trouvées dans la composition de la

BLC dont la composition dépend fortement de sa source. Il existe une variation significative de la teneur en lignine et hémicellulose de la lignocellulose selon qu'elle provient de bois, des feuillus, de bois des résineux ou de graminées [24].

Tableau 3. Teneur en cellulose, hémicellulose et lignine de divers biomasses lignocellulosiques

BLC	Lignine %	Hémicellulose (%)	Cellulose (%)	Références
Feuillus	18-25	24-40	40-55	[25]
Résineux	25-35	25-35	45-50	[25]
Sorgho sucré	21	27	45	[26]
Paille de riz	9,8 ± 5,5	26,7 ± 4.9	35,3 ± 4.5	[27]
Rafles de maïs	15	35	45	[28]
Paille de blé	16-21	26-32	29-35	[25]
Bagasse	23,33	16,52	54,87	[29]
Résidus de banana	14	14,8	13,2	[30]
Coque de cacahuètes	16	36	38	[31]
Miscanthus	20,4 ± 4,8	25,4 ±2,2	44,0 ± 4,8	[27]
Fibre de maïs	7,3 ± 1,6	27,4 ± 1,2	38 ± 3,8	[27]
Ecorce de pin maritime	44	15	24	[32]

2. Cellulose

Le composant principal de la biomasse lignocellulosique est la cellulose. La cellulose est un homopolysaccharide linéaire constitué d'unités de glucose (D-glucopyranose) liées entre elles par des liaisons β (1-4) glycosidiques (β -D-glucane) décrites sur la Figure 5.

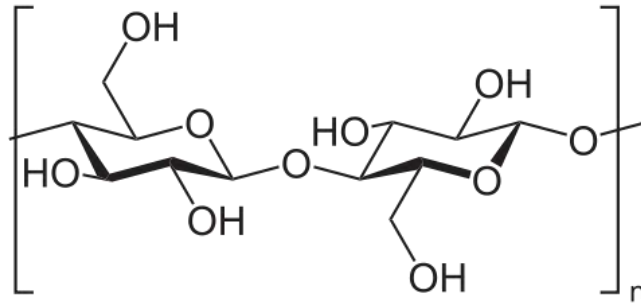


Figure 4. Structure chimique de la cellulose [33]

La cellulose est le plus grand polymère naturel. Bien que la taille d'une molécule de cellulose soit généralement définie par son degré de polymérisation (DP) qui est le nombre d'unités de glucose présentes dans une seule chaîne, L'unité récurrente de la cellulose est le disaccharide cellobiose [34].

La cellulose possède une structure linéaire et une forte tendance à former des liaisons hydrogène intra- ou intermoléculaires [35]. Ces liaisons hydrogène, ainsi que les forces de Vander Waal, rendent la structure de la cellulose si complexe que les molécules de cellulose individuelles sont disposées en faisceaux appelés microfibrilles qui favorisent l'agrégation en régions cristallines et hautement ordonnées. Chaque microfibrille contient environ 40 molécules de cellulose individuelles [36]. La disposition des fibrilles et des microfibrilles de la molécule de cellulose est illustrée à la figure 5.

En plus de la région cristalline, il existe un faible pourcentage de chaînes de cellulose non organisées qui forment la région amorphe de la cellulose. Cet arrangement des régions cristallines et amorphes de la molécule de cellulose est responsable des propriétés intéressantes, de la rigidité d'une part, et de la flexibilité d'autre part. L'indice de cristallinité (IC) est le paramètre utilisé pour déterminer la quantité relative de matière cristalline dans la cellulose. L'indice de cristallinité des celluloses peut être mesuré à l'aide de diverses techniques, notamment la diffraction des rayons X (XRD), la spectroscopie RMN du carbone-13, la spectroscopie infrarouge (IR) et la spectroscopie Raman.

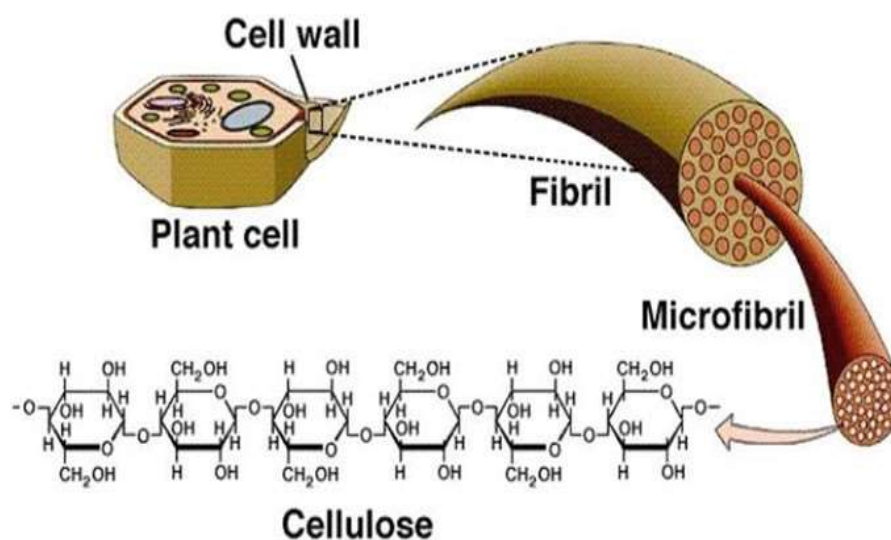


Figure 5. Disposition des fibrilles, microfibrilles et cellulose dans la paroi cellulaire végétale [37]

L'indice de confiance de la cellulose a également été utilisé pour interpréter les changements structuraux de la molécule de cellulose après les prétraitements physico-chimiques et biologiques de la biomasse lignocellulosique. Cependant, il a été constaté que l'indice de confiance de la cellulose varie (39-67% de la cellulose Avicel) selon la source de la cellulose et la technique utilisée pour la mesure [38]. Il est généralement admis que les régions amorphes d'une cellulose partiellement cristalline sont d'abord hydrolysées, puis les domaines cristallins, ce qui entraîne une augmentation de l'indice de cristallinité et une diminution de la vitesse d'hydrolyse aux stades ultérieurs. Cependant, la corrélation entre cristallinité de la cellulose et la vitesse d'hydrolyse est difficile à établir en raison de l'utilisation de différents types de cellulose [39]. Les enzymes impliquées dans la dégradation de la cellulose appartiennent principalement aux hydrolases comme la cellulase (endoglucanase), la 1, 4- β -cellobiosidase et la β -glucosidase qui clivent les liaisons glycosidiques [34].

3. Hémicellulose :

Les hémicelluloses sont des hétéropolymères ramifiés complexes composés de différents pentoses tels que le d-xylose, le d-arabinose et d'hexoses tels que le d-mannose, le d-glucose et l'acide d-glucuronique comme représenté dans la figure 6.

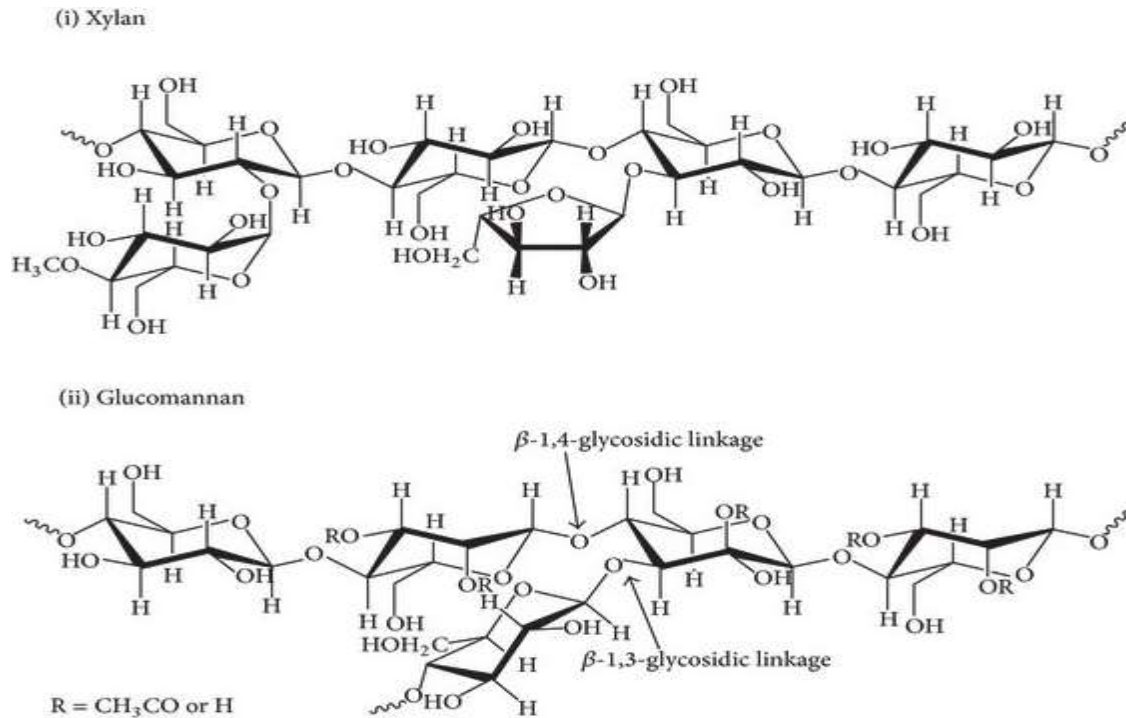


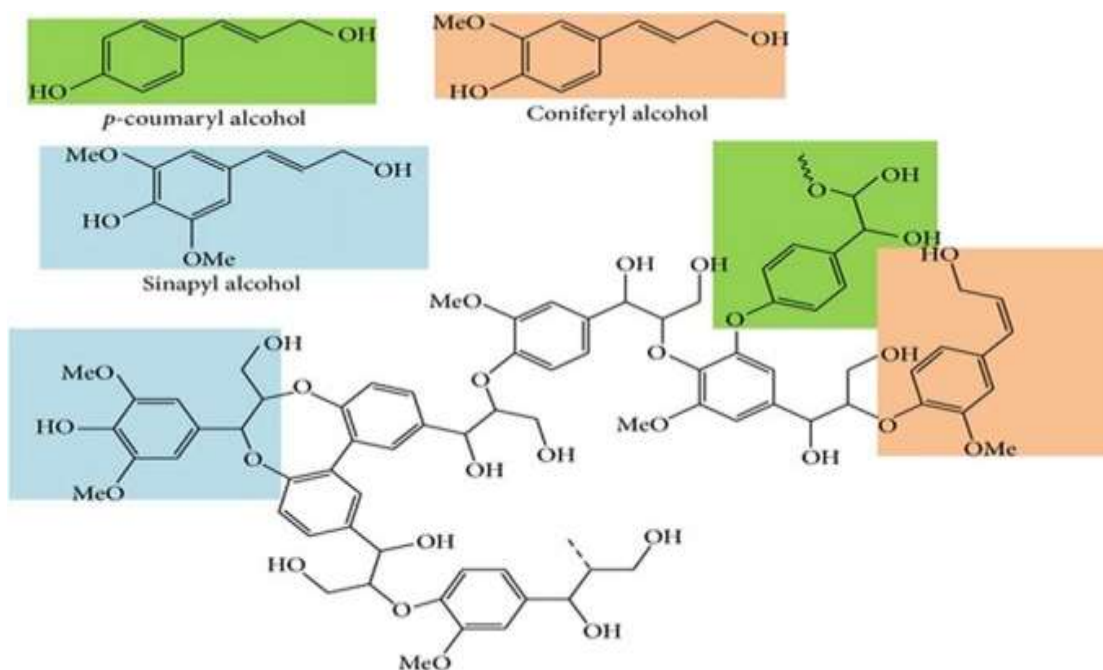
Figure 6. Structure de l'hémicellulose [40]

L'hémicellulose présente des branches avec de courtes chaînes latérales composées de différents sucres, acides de sucre et esters acétyliques. Ces groupes acides et esters rendent les hémicelluloses non cristallines ou faiblement cristallines, de sorte qu'elles existent plutôt sous forme de gel que de fibres [41]. Les hémicelluloses ont également un degré de polymérisation plus faible et sont plus facilement hydrolysables [42]. L'hémicellulose est plus soluble que la cellulose et est fréquemment ramifiée avec un degré de polymérisation de 100-200. L'hémicellulose est classée sur la base du sucre monomère présent dans le squelette du polymère, par exemple le mannane (mannose lié en β -1,4) ou le xylan (β -1,4), (xylose lié en β -1,4), l'hémicellulose de xylan étant la plus abondante dans la nature (figure 7).

4. Lignine :

Après la cellulose, la lignine est la deuxième source de carbone renouvelable la plus abondante. La lignine est un hétéropolymère phénolique réticulé dérivé principalement de trois monomères d'alcool hydroxycinnamoylé, à savoir les alcools p-coumaryle, coniféryle et sinapyle. Ils sont principalement formés par la polymérisation radicalaire d'unités alcool phydroxy cinnamyle à teneur en méthoxy variable (Figure 8). Ils sont de nature relativement hydrophobe et aromatique. Selon le degré de méthylation, le groupe aromatique est le p-hydroxybenzyle (dérivé de

l'alcool p-coumarylique), le guaiacyle (dérivé de l'alcool coniféry lique) ou le syringyle (dérivé de l'alcool sinapylique) [43]. La lignine non seulement donne de la résistance au tissu végétal en raison de sa rigidité, mais elle affecte également le transport de l'eau, des nutriments et des métabolites. La teneur en lignine dans la biomasse lignocellulosique peut fortement varier selon que l'on considère des feuillus, des résineux ou des herbacés, comme cela a déjà été illustré par le Tableau 5.



5. Extractibles :

Les extractibles sont des molécules de faible poids moléculaire qui confèrent de nombreuses caractéristiques au bois comme sa couleur, son odeur, sa durabilité ou encore sa résistance à la lumière. Ce sont des alcaloïdes, des quinones, des graisses, des huiles, des saponines, des terpènes, des cires et un grand nombre de composés aromatiques et phénoliques [45]. Ils sont présents, surtout, dans les nœuds du bois, qui sont des zones de blessure, assurant ainsi une protection accrue contre les agressions extérieures au niveau de ces zones fragilisées [46].

III. Procèdes de conversion de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol

1. Les biocarburants

Les biocarburants existent depuis plus longtemps que les voitures, mais l'essence et le diesel bon marché les ont maintenus longtemps en marge. La flambée des prix du pétrole, et maintenant les efforts mondiaux pour conjurer les pires effets du changement climatique, ont donné une nouvelle urgence à la recherche de carburants propres et renouvelables. L'idée derrière le biocarburant est de remplacer les carburants fossiles par ceux fabriqués à partir de matières végétales ou d'autres matières premières renouvelables.

Il existe différentes façons de produire des biocarburants ; elles reposent généralement sur des réactions chimiques, la fermentation et la chaleur pour décomposer les amidons, les sucres et d'autres molécules issues de la biomasse. Les produits résultants sont ensuite raffinés pour produire un carburant que les voitures ou autres véhicules peuvent utiliser.

Les deux principaux biocarburants prêts à un développement industriel sont l'éthanol et l'ester méthylique d'huile végétale ou biodiesel [47].

2. Bioéthanol

L'éthanol est également connu sous le nom d'alcool éthylique. Sa formule moléculaire est $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. Le bioéthanol ou éthanol biosucré, est l'éthanol produit par fermentation à partir de biomasse. De nos jours, le bioéthanol est le biocarburant liquide le plus utilisé au monde. Il est principalement produit par fermentation microbienne de sucre ou d'amidon à partir de diverses matières premières, y compris la canne à sucre, la betterave à sucre, le maïs, les céréales, les déchets agricoles, les déchets forestiers, les déchets municipaux, les fumiers de bétail, etc. Lorsque les sucres sont présents sous forme de polysaccharides, un processus d'hydrolyse (acide ou enzymatique) est généralement utilisé pour la délignification et la formation de sucres fermentescibles avant la fermentation. À l'aide de micro-organismes (par exemple, la levure), les sucres hydrolysés (par exemple, le glucose) sont convertis en éthanol (bioéthanol) pendant le processus de fermentation. La distillation et la déshydratation sont ensuite utilisées pour produire un alcool sans indice d'octane élevé, également appelé éthanol déshydraté ou éthanol anhydre [48,49].

Pour améliorer la qualité du carburant comme la volatilité, l'indice d'octane, le démarrage à froid, le fonctionnement à chaud et la consommation de carburant, le bioéthanol est généralement mélangé avec de l'essence. Par exemple, le E5 (5 % d'éthanol et 95 %

d'essence) et le E25 (25 % d'éthanol et 75 % d'essence) ne nécessitent aucune modification de l'équipement ou des réglages du moteur [50].

3. Principaux modes de production d'éthanol

Selon le procédé de production utilisé, on peut classer l'éthanol selon son origine : nonrenouvelable, renouvelable biosourcé de 1^{ère} ou de 2^{ème} génération (Tableau 6).

Tableau 4: Les différents procédés de production d'éthanol [51].

Éthanol non renouvelable :	Éthanol renouvelable :	Éthanol renouvelable :
Éthanol synthétique	1 ^{ère} génération	2 ^{ème} génération
Hydratation de l'éthylène	Produit de plantes sucrières	Biomasse
Hydrogénation de l'acide acétique	Produit de plantes amylacées	lignocellulosique

A. Éthanol non renouvelable : Éthanol synthétique

La grande partie d'éthanol produit dans le monde provient de matières premières fossiles d'origine pétrolière : cet éthanol est qualifié de synthétique. Il est industriellement produit à partir de la pétrochimie par hydratation de l'éthylène, un produit pétrochimique majeur, ou par catalyse acide directe ou indirecte [52, 53].

B. Éthanol renouvelable de 1^{ère} génération

Il est produit à partir des jus libres de sucre de certaines cultures, en convertissant le saccharose ou les monosaccharides, en particulier le glucose, en éthanol par fermentation grâce à des micro-organismes. Une variété de matières premières telles que les cultures contenant du saccharose (par exemple la canne à sucre ou la betterave à sucre) et les céréales féculentes (par exemple le blé, le maïs et l'orge) sont les bonnes sources de substances riches en sucre pour la production de bioéthanol. Les biocarburants de première génération entrent en concurrence directe avec la chaîne alimentaire. Ils sont produits à partir de matières premières qui peuvent être utilisées dans une chaîne alimentaire animale ou humaine [54]. Aujourd'hui, seule cette génération est produite à l'échelle industrielle. Pour produire de l'éthanol à partir d'amidon, il est nécessaire de décomposer sa chaîne glucidique pour obtenir un sirop de glucose, qui peut être transformé en éthanol par les levures selon le schéma

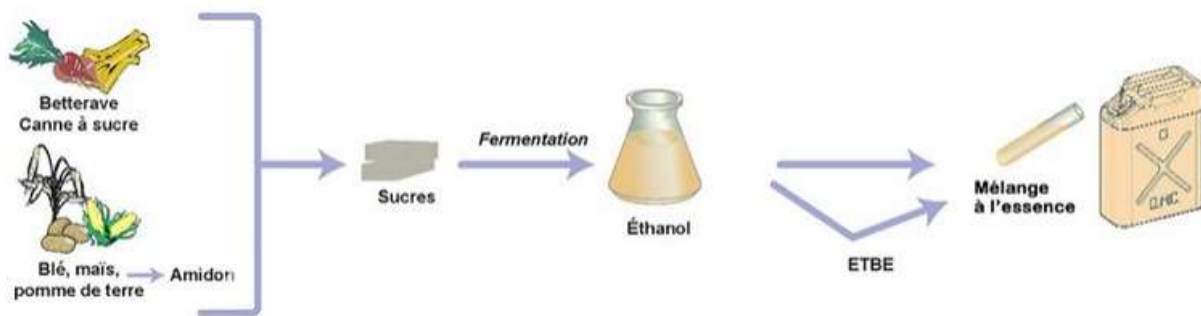


Figure 8. Les différents procédés de production d'éthanol [54]

C. Éthanol renouvelable de 2^{ème} génération

Le bioéthanol de deuxième génération est produit à partir de ressources renouvelables non alimentaires notamment de la BLC. Les biomasses lignocellulosiques ne se décomposent pas facilement en molécules de sucres simples, car elles résistent aux attaques enzymatiques en raison de leur structure imperméable. Trois étapes sont nécessaires au traitement de la BLC en éthanol, à savoir le prétraitement, l'hydrolyse et la fermentation. Divers paramètres, tels que le degré de rupture de la structure complexe de la lignocellulose, la charge enzymatique, ou l'interférence des inhibiteurs pendant l'hydrolyse et la fermentation, doivent nécessairement être pris en compte lors du procédé de bioconversion. Le prétraitement est considéré comme l'une des étapes de traitement les plus coûteuses dans la conversion de la cellulose en sucres fermentescibles. Il présente également un fort potentiel d'amélioration de l'efficacité et de réduction des coûts accessible grâce à la recherche et au développement. [51].

4. Procèdes de conversion de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol

Le procédé de production d'éthanol 3G se décompose en 4 étapes principales : le prétraitement, l'hydrolyse enzymatique, la fermentation alcoolique et la distillation (voir en Figure 10). L'étape principale et limitante est l'hydrolyse qui consiste à transformer la cellulose de la biomasse lignocellulosique en glucose.

A. prétraitement de la biomasse lignocellulosique

Le prétraitement est une étape importante nécessaire pour décomposer la structure de la lignine et des hémicelluloses, réduire la cristallinité et augmenter la porosité de la cellulose afin de la rendre accessible aux enzymes ou aux acides et permettre ainsi son hydrolyse.

Le prétraitement de la biomasse par différentes méthodes permet d'éliminer l'hémicellulose et la lignine de cette matrice avant l'hydrolyse [58].

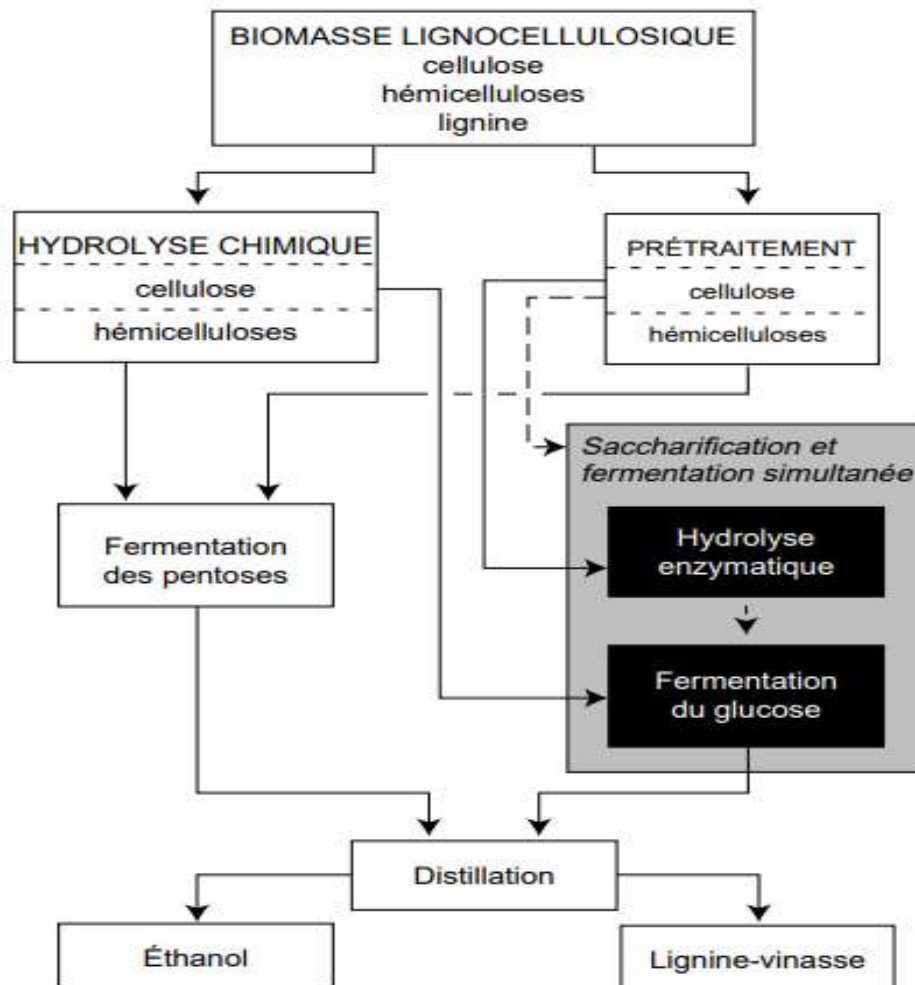


Figure 9. Schéma simplifié de la production d'éthanol à partir de biomasse [57]

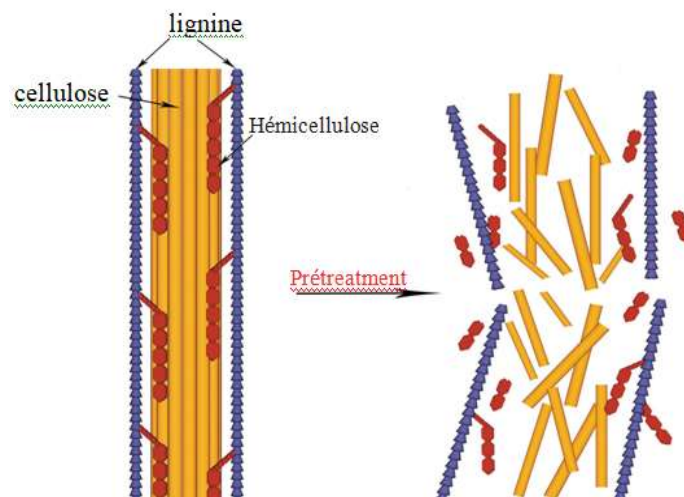


Figure 10. Représentation schématique de la matrice de polymères dans laquelle les cellules existent. Le prétraitement de la biomasse par différentes méthodes permet d'éliminer l'hémicellulose et la lignine de cette matrice avant l'hydrolyse [58]

Une classification généralisée des méthodes de prétraitement les regroupe en : prétraitements physique, chimique, biologique et multiple ou hybride, comme illustré sur la Figure 12.

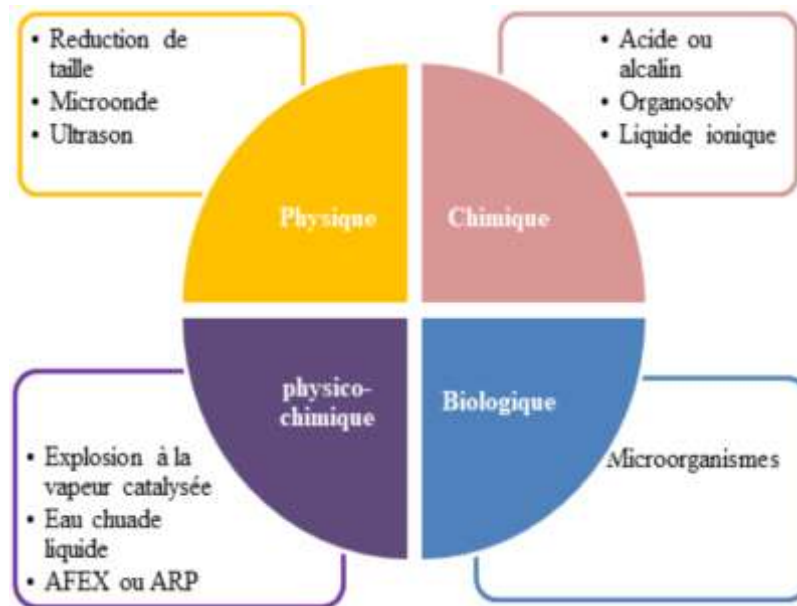


Figure 11. Classification des différentes classes de prétraitements de la BLC [51]

a. Prétraitement physique

La fragmentation, le déchiquetage, le broyage font partie des différentes méthodes mécaniques de réduction de taille qui sont utilisées pour améliorer la digestibilité de la biomasse lignocellulosique. Le broyage est une opération unitaire de réduction de la taille des particules, où la taille de la matière solide est réduite par impact, compression ou cisaillement. Les avantages de la réduction de la taille des particules comprennent :

- (1) l'augmentation du rapport surface/volume ;
- (2) la normalisation de la taille des particules, améliorant l'homogénéité du substrat [59 ,60].

b. Prétraitements chimiques

Les prétraitements chimiques sont généralement conçus pour perturber et éliminer la lignine et/ou l'hémicellulose de la matrice [61].

Le Prétraitement acide dont le mécanisme est basé sur la distorsion des liaisons hydrogène et covalentes qui maintiennent ensemble les différents composants de la biomasse, son efficacité dépend de la sensibilité des liaisons glycosidiques entre la cellulose et l'hémicellulose à l'acide [62, 63]. Les ions hydronium provenant du catalyseur acide

provoquent l'hydrolyse de la cellulose et de l'hémicellulose en leurs sucres monomères respectifs [64].

Le prétraitement à l'acide est effectué soit avec des acides concentrés de l'ordre de 30 à 70 % à basse température (<100 °C), soit avec des acides dilués de l'ordre de 0,1 à 10 % à haute température (100-250 °C), en fonction du type de substrat et des résultats attendus. Les acides minéraux, dont H₂SO₄ ou HCl, sont généralement employés dans le prétraitement par acide concentré [65].

Le prétraitement à l'acide dilué est effectué à de faibles concentrations d'acide et à une température élevée pour hydrolyser la portion hémicellulose des lignocelluloses en ses composants avec une décomposition minimale des sucres [66]. L'acide sulfurique est l'acide le plus utilisé, d'autres acides comme HCl, HNO₃ et H₃PO₄ sont également utilisés. L'acide dilué catalyse la décomposition des longues chaînes d'hémicellulose pour libérer des oligomères à chaîne plus courte qui se décomposent ensuite en sucres monomères correspondants. Le prétraitement à l'acide dilué est considéré comme le prétraitement le plus approprié à l'échelle industrielle en raison de son caractère économique et écologique [67].

Le prétraitement alcalin consiste à appliquer des bases à la biomasse lignocellulosique qui provoque un gonflement, ce qui entraîne une augmentation de la surface interne du substrat et une diminution du degré de polymérisation et de la cristallinité de la fraction cellulosique, une déformation de la structure de la lignine et la destruction des liens entre la lignine et les hydrates de carbone [68]. L'efficacité du prétraitement alcalin dépend du pourcentage de lignine dans la biomasse, car il fonctionne mieux avec la biomasse à faible teneur en lignine [69]. NaOH, KOH et Ca(OH)₂ sont les bases les plus utilisées pour le prétraitement alcalin des lignocelluloses.

Le mécanisme du prétraitement alcalin implique une réaction de saponification qui facilite le clivage de la liaison ester intermoléculaire entre la lignine et les hémicelluloses, ce qui entraîne leur solubilisation. En outre, la séparation des groupes acétyles et de l'acide uronique des fragments d'hémicellulose améliore l'accessibilité des polysaccharides à l'hydrolyse enzymatique [70]. De même, la lignine contenue dans le prétraitement alcalin est dissoute et séparée du substrat brut et l'effluent du processus est riche en composés phénoliques [66]. Le principal inconvénient de cette technique est qu'une partie du fragment d'hémicellulose est également dégradée.

Le prétraitement alcalin à l'aide d'hydroxyde de calcium a également été étudié et s'est avéré être rentable, plus sûr et plus efficace respectueux de l'environnement et facilement récupérable [71]. Les méthodes de prétraitement alcalin à base d'ammoniaque ont également

été largement étudiées en raison de leur nature non corrosive et non toxique et de la facilité de récupération de l'ammoniac [72, 73]. Le traitement au peroxyde d'hydrogène est une autre méthode de prétraitement à base d'alcalins qui est effectué à haute température (<100 °C) pour promouvoir une décomposition rapide de H₂O₂. Cela entraîne la formation d'ions réactifs comme les radicaux hydroxyles (HO) et les anions superoxydes (O²⁻) qui provoquent finalement la dégradation de la lignine.

D'autres types de traitement peuvent être utilisés tel que le traitement biologique qui se réfère généralement à la déconstruction de la fraction lignine complexe et récalcitrante des substrats lignocellulosiques en utilisant des micro-organismes et/ou des enzymes ligninolytiques [74].

B. Hydrolyse de la biomasse lignocellulosique

a. Hydrolyse chimique (hydrolyse acide)

L'hydrolyse acide concentrée (teneur en acide d'environ 70 %) utilise une température basse (37°C) et une faible pression. Un modèle d'hydrolyse acide concentrée a été mis au point par l'USDA et perfectionné par Purdue University et la Tennessee autorité de la Vallée. Le processus d'acide concentré de la TVA se déroule en deux étapes : dans la première étape, le substrat cellulosique est combiné à de l'acide sulfurique dilué (10 %), puis chauffées à 100 °C pendant 2 ± 6 heures dans le premier réacteur d'hydrolyse. Pour récupérer les sucres, le matériau hydrolysé dans le premier réacteur est trempé dans l'eau, puis filtré, ce liquide contient des sucres d'hémicellulose. Afin de récupérer la cellulose, le substrat exempt d'hémicellulose est ensuite séché et trempé dans une concentration de 30±40% (m/m) d'acide sulfurique pendant 1±4h comme étape d'hydrolyse de la précellulose. Ce matériau est ensuite déshydraté, ce qui fait que la concentration d'acide dans le matériau augmente jusqu'à 70 %. Après avoir réagi dans un autre récipient pendant 1±4 h à 100 °C, le contenu du réacteur est filtré pour éliminer les solides et récupérer le sucre et l'acide.

La solution de sucre et d'acide de la deuxième étape est ensuite recyclée dans la première étape pour fournir la solution de sucre et d'acide. Le principal avantage de l'hydrolyse acide est le rendement élevé de la récupération des sucres, qui peut être de l'ordre de plus de 90 % des sucres de l'hémicellulose et de la cellulose [75].

L'hydrolyse à l'acide dilué utilise une concentration modérée d'acide (0,5 à 1,5 % d'acide sulfurique exprimé par rapport à la matière sèche présente), à des températures comprises entre 180 et 240 °C, pour une durée d'hydrolyse variant de quelques secondes à

quelques minutes dans le cas de réacteurs “piston. Le rendement maximal en glucose est alors de 55- 60 %, mais l’essentiel des pentoses est transformé en furfural [76].

Afin d’améliorer le taux de récupération et la concentration des sucres dans les hydrolysats, il a semblé indispensable de réaliser l’hydrolyse de la cellulose et des hémicelluloses en deux étapes séparées, et de prévoir une étape intermédiaire de récupération des produits issus de l’hydrolyse des hémicelluloses. Une première étape à 140-160 °C permettait d’hydrolyser les hémicelluloses, une deuxième étape à 160-180 °C permettait d’hydrolyser la cellulose. Avec cette approche en deux étapes, le taux de récupération des sucres était compris entre 70 et 80 %, et la concentration en glucose pouvait atteindre 12 à 14 % [71].

b. Hydrolyse enzymatique de la biomasse lignocellulosique :

Dans la nature, la lignocellulose est dégradée par une batterie d'enzymes hydrolytiques et oxydatives produites par une variété de champignons et de bactéries qui sont capables de dégrader en synergie la cellulose, l'hémicellulose et la lignine [77]. Les dégradateurs aérobies de la cellulose, tant bactériens que fongiques, utilisent la cellulose à travers la production de quantités substantielles d'enzymes cellulases extracellulaires qui sont librement récupérables dans les surnageants de culture [78,79]. Les bactéries anaérobies dégradent la cellulose principalement par l'intermédiaire de systèmes cellulases complexes appelés cellulosomes, qui consistent en de multiples sous-unités, qui interagissent les unes avec les autres de manière synergique et dégradent le substrat cellulosique [80].

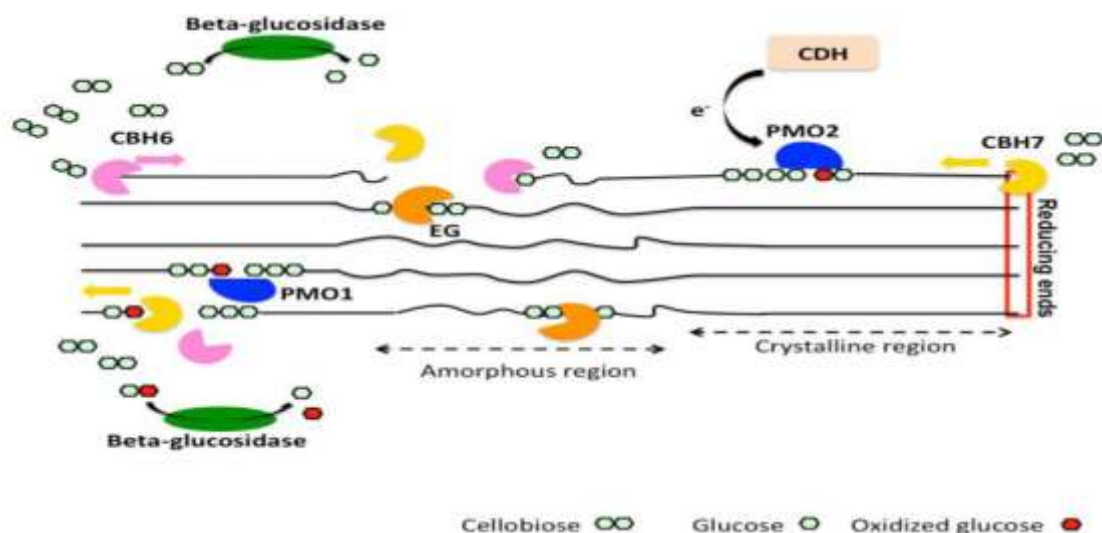


Figure 12. Schéma simplifié de la vision actuelle de la dégradation enzymatique de la cellulose [81]

La ségragation implique les cellobiohydrolases (CBH), les endoglucanases (EG), les PMO de type 1 et 2 (PMO1 et PMO2, respectivement). La cellobiose déshydrogénase (CDH) est un donneur d'électrons potentiel pour les PMO. Les EG et les PMO clivent les chaînes de cellulose internes en libérant les extrémités de chaîne qui sont ciblées par les CBH. Les CBH génèrent du cellobiose ou du cellobiose oxydé qui sont ensuite hydrolysés par la β -glucosidase [81].

C. Fermentation éthanolique

La fermentation est le processus de biodégradation des matières organiques (principalement des glucoses en bioéthanol). Pour cela il existe deux procédés couramment utilisés pour aboutir à un bon rendement en éthanol lorsque divers produits agricoles comme la canne à sucre, la betterave et les différents types de céréales (orge, maïs, avoine...) sont valorisés :

Le premier procédé consiste à utiliser la levure pour la fermentation de l'amidon qui conduit à la production de l'éthanol utilisé par la suite comme carburant dans le secteur de transport.

Le deuxième procédé est l'utilisation des enzymes qui permettent la décomposition de la cellulose contenue dans les fibres des plantes et par conséquent l'obtention d'un rendement maximum lors de la synthèse du bioéthanol [82].

D. Distillation azéotropique

La distillation azéotropique (DA) est un procédé permettant de briser un azéotrope où un autre composant volatil, appelé entraîneur, solvant ou agent de séparation des masses (ASM), est ajouté pour former un nouvel azéotrope à faible point d'ébullition qui est hétérogène. Comme l'illustre la figure 14, le procédé DA comprend deux colonnes de distillation : une colonne azéotropique pour la déshydratation de la solution d'éthanol à 92,4 % en poids provenant de l'étape de pré-concentration à l'aide d'un entraîneur, et une colonne de stripping pour la séparation de l'entraîneur du flux de produit. Dans la colonne azéotropique, le produit éthanol (>99 % en poids) quitte le fond de la colonne.

L'azéotrope ternaire formé contenant de la vapeur d'eau, l'entraîneur et de petites quantités d'éthanol sortent par le haut de la colonne, puis entrent dans un séparateur (appelé décanteur). et se divise en phase organique (éthanol-entraîneur) et en phase aqueuse (eau-entraîneur).

Le premier est refluxé dans la première colonne, tandis que le second est traité dans la colonne de stripage pour la récupération de l'entraîneur et de l'éthanol.

Les entraîneurs couramment utilisés pour séparer le mélange éthanol±eau par distillation azéotrope hétérogène sont le benzène, le toluène, le cyclohexane, et un solvant mixte, par exemple un mélange de benzène et de n-octane [83 - 89].

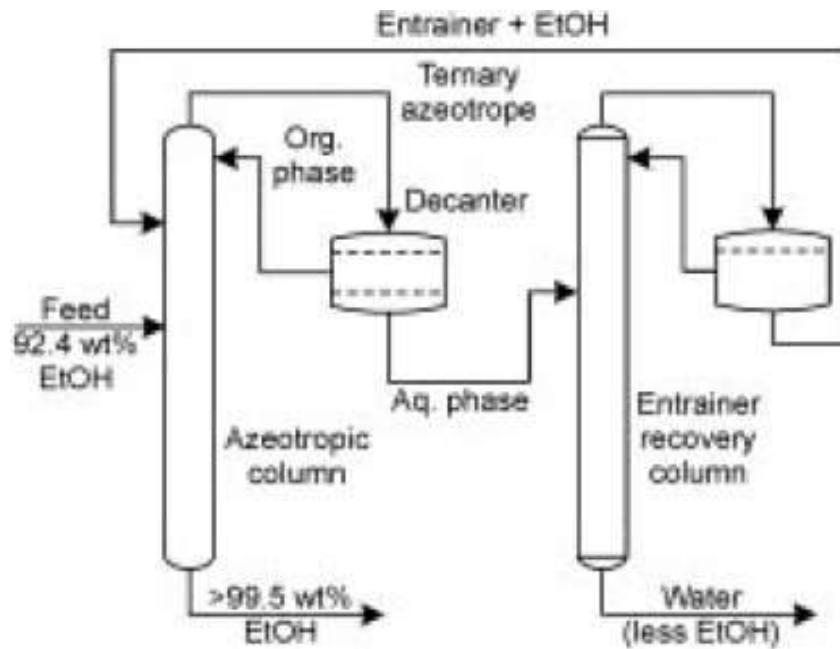


Figure 13. Schéma d'un système de DA pour la déshydratation de l'éthanol [85, 88]

PARTIE II. PARTIE EXPÉRIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de chimie appliquée et de génie chimique de l'UMMTO, a pour objectif de produire du bioéthanol à partir d'une masse lignocellulosique issue du grignon d'olive. Le procédé de conversion de ce dernier en bioéthanol est résumé dans les étapes suivantes :

Séchage des grignons à l'aire libre, broyage, prétraitement à l'acide dilué, prétraitement basique, hydrolyse purement chimique (à l'acide concentré), fermentation et distillation.

I. Matière végétale

Les grignons d'olives que nous avons utilisé ont été récupérés en mois de mars d'une huiler moderne de la région de Beni Douala. Ont été séchés à l'air libre sans exposition aux rayons solaires pendant une semaine et cela pour ramener le taux d'humidité à moins de 8% puis broyés avec un broyeur électrique, en suite stockés à l'abri de l'humidité et de la chaleur.



Figure 14. Photo des grignons bruts et broyés

Le broyage des grignons d'olive est effectué avec un broyeur électrique modèle SAMAP 68280 Andolsheim type F 100 Qui nous a permis d'obtenir des grains moyennement fins et homogène comme illustré dans la figure 15.

Nous avons tamisé les grignons broyés avec un tamis normalisé de diamètre de 1 mm.

II. Méthodes de caractérisation

La composition chimique des grignons d'olive varie selon l'espèce, les conditions de culture, l'origine des olives et le procédé d'extraction. Les grignons issus des systèmes d'extraction en continu présente des caractéristiques très différentes de ceux des grignons d'olive des systèmes à presse traditionnels [90, 91].

Le tableau 7 résume la composition chimique des grignons d'olive obtenus des différents types de systèmes d'extractions de l'huile d'olive (voir annexe 1)

Tableau 5. Caractéristiques des grignons d'olives [92]

Paramètres	Système de pression	Système triphasé	Système biphasé
Humidité	27,21% ± 1,048	50,23 ± 1,935	56,80 ± 2,188
Matière grasse	8,72 ± 3,254	3,89 ± 1,449	4,65 ± 1,736
Sucres totaux	1,38 ± 0,016	0,99 ± 0,012	0,83 ± 0,010
Cendres	2,36 ± 0,145	1,70 ± 0,105	1,42 ± 0,088

1. Teneur en eau

C'est le rapport exprimé en pourcentage du poids de l'eau contenu dans les grignons d'olive.

La teneur en eau est déterminée par des échantillons de grignon brut (GB) collectés directement de l'huilerie.

Elle est déterminée aussi pour des échantillons séchés à l'air libre à la température ambiante ($\approx 20^\circ\text{C}$). Ces échantillons sont ceux utilisés pour la suite des expériences. La teneur en eau est déterminée par la relation suivante :

Équation 1

$$H\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

Tel que : m_0 : masse du creuset vide, m_1 : mass du creuset et du grignon, m_2 : après s'échange.

La procédure de détermination de la teneur en eau consiste à :

- Peser 10 g de grignon dans un creuset préalablement séché.
- Mettre à l'étuve à 103°C .
- Peser le grignon séché chaque 02 heures, et arrêter lorsque la masse est stabilisée, noter la masse (m_2).
- Effectuer 03 essais.

2. Taux de cendres

Permet de distinguer le taux de la matière organique qui rentre dans la composition des grignons d'olive.

La teneur en cendre a été déterminée en utilisant la méthode analytique LAP [93]. Elle est exprimée en pourcentage de résidu restant après incinération d'un échantillon sec 600 °C pendant 4 heures. La teneur en cendre est calculée sur la base de l'échantillon séché à l'air

Équation 2

$$H\% = \frac{m_1 - m_{cr}}{m_2 - m_{cr}} \times 100$$

Tel que : m_{cr} : la masse du creuset en gramme (g), m_1 : la masse du creuset et des cendres (g), m_2 : la masse du creuset et du grignon (g).

3. Taux de matière grasse

Mettre dans un bêcher 100 g de grignon d'olive, ajouter 300 ml d'hexane et laisser sous agitation magnétique et sous température ambiante pendant 24 heure ; filtrer et distiller le filtrat liquide à 69°C et récupérer l'huile à la fin qui sera utilisée pour déterminer le taux de gras.

4. Teneur en sucres

La teneur en sucres a été déterminée par la méthode utilisant les réactifs phénol – acide sulfurique [94 - 96]. La détermination des sucres avec cette méthode est basée sur l'absorbance à 490 nm d'un composé aromatique coloré formé entre le phénol et le carbohydrate.

Mode opératoire

- Dans 4 tubes à essai introduire 2 ml de la solution sucrée (prélèvement de chaque moût avant et après fermentation).
- Ajouter 1 ml de phénol à 5%.
- Ajouter 5 ml d'acide sulfurique concentrée.
- Laisser les tubes au repos pendant 10 minutes, puis agiter et mettre à l'étuve pendant 10 à 20 minutes à une température de 30°C.
- Avec un appareil UV-visible mesurer l'absorbance a une longueur d'onde de 490 nm.
- Déterminer la concentration en sucre à l'aide de la courbe d'étalonnage obtenue par la procédure suivante :
- Préparer une solution de glucose (0,9 de glucose dans 100 ml d'eau distillée).
- Préparer des solutions filles avec les concentrations suivantes : 0,2 mg/l ; 0,4 mg/l ; 0,6 mg/l ; 0,8 mg/l et 0,9 mg/l.

- Prélever 2 ml de chaque solution sucrée dans des tubes.
- Ajouter 1 ml de solution de phénol à 5%.
- Ajouter 5 ml d'acide sulfurique concentrée.
- Laisser les tubes 2 minutes au repos, puis agiter et placer dans
- l'étuve à 30°C pendant 10 à 20 minutes.
- Mesurer l'absorbance à la longueur d'onde 490 nm pour l'ensemble des solutions filles préparées.
- Une droite $A = f(C)$ est obtenue. Elle est présentée dans la partie résultats.

Les échantillons des solutions riches en sucre prélevés des moûts avant et après fermentation, ainsi que les solutions de glucose préparées ont été analysés dans les mêmes conditions avec un dispositif de spectroscopie UV-visible de type Spectromètre UV-1800 SHIMADZU UV SPECTROPHOTOMETER à une longueur d'onde $\lambda = 490$ nm.

5. Spectroscopie infrarouge

Des échantillons des grignons d'olive ont été analysés par spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge (400 à 4000 cm^{-1}) par le moyen du dispositif ATR. L'appareil de spectroscopie infrarouge est de marque SHIMADZU dont la référence est IRAffinity-1S FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROPHOTOMETER. Les échantillons analysés sont le grignon d'olive brut, et cellulose séparée.

6. Analyse du bioéthanol par chromatographie gazeuse (CPG)

Les analyses par CPG ont été réalisées sur un dispositif de type Agilent Technologies 6850 Network GC System.

Les conditions d'analyses sont : température de l'injecteur 150°C, température de détecteur 250°C (détecteur à ionisation de flamme FID), température de four isotherme 100°C pendant 5 mn, mode d'injection Split 18:1, volume d'injection 1 μl , débit de gaz vecteur 25 ml/mn

Pour la colonne utilisée est de type DB-624, longueur 30m, film 3,00 μm , limites de température -20°C à 260°C.

L'échantillon d'éthanol de référence est de marque honeywell, pureté $\geq 99,8\%$, et de masse volumique $\rho = 790 \text{g/l}$.

III. Séparation des constituants lignicellulosiques du grignon

1. Déshuilage du grignon

Mettre dans un bêcher 50 g de grignon d'olive, ajouter 150 ml d'hexane et laisser sous agitation magnétique et sous température ambiante pendant 1 heure ; filtrer :

- Filtrat liquide : distiller à 69°C et récupérer l'huile à la fin qui servira par la suite pour la détermination du taux de la matière grasse.
- Traiter le filtrat solide selon le protocole suivant :

Deux échantillons de même masse (50g) dont un est déshuilé et l'autre non déshuilé vont subir les traitements suivant :

2. Traitement à l'acide sulfurique dilué – séparation de l'hémicellulose

Cette étape permet la séparation de l'hémicellulose [97].

Immerger 50 g de grignon d'olive préalablement déshuilé dans 400 ml d'une solution de H_2SO_4 2 % (m/m), mettre le mélange dans un dispositif de chauffage à reflux à 100°C pendant 2 heure sous agitation continue .

Après 2 heures de chauffage à reflux éteindre la plaque chauffante et laisser le mélange refroidir, filtrer.

Pour la filtration nous avons utilisé du papier filtre JOANLAB 12.5 cm MICRON SISE 1-3 μm durant toutes les étapes.

L'hémicellulose est récupérée dans la phase liquide, le résidu solide est rincé à l'eau distillée afin de subir d'autres phases de traitement.

3. Traitement basique – séparation de la lignine

Cette étape permet la séparation de la lignine [98]; immerger le résidu solide dans une solution de NaOH 15% (m/m) et chauffer a reflux à 100°C pendant 2 heures sous agitation continue. Après refroidissement filtrer et récupérer la phase solide composée de cellulose et rincer à l'eau distillée, la lignine est transférée dans la phase liquide (filtrat).

4. Lavage à l'eau de javel – purification de la cellulose

Le résidu cellulosique issu du traitement basique de couleur marron est mis en contact avec 100 ml d'eau de javel commercial, ce traitement permet la désinfection (stérilisation) et la décoloration du résidu cellulosique, la cellulose séparée par filtration est de couleur jaune claire (figure 16).



Figure 15: cellulose avant et après traitement à l'eau de javel

La cellulose séparée est partagée en deux fractions égales et chaque fraction va subir une hydrolyse à part : l'une par HCl et l'autre par H₂SO₄

5. Hydrolyse acide de la cellulose

En raison d'indisponibilité des enzymes et leur coût élevé, nous avons opté à la procédure de l'hydrolyse purement chimique (hydrolyse acide).

A. Hydrolyse à l'acide chlorhydrique

Rincer la cellulose avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 14,8 % (m/m) afin de la rendre amorphe et fragile, en suite rincer intensivement à l'eau distillée.

La cellulose amorphe est hydrolysée avec 250 ml d'acide HCl 2,96 % (m/m) par chauffage à reflux à 100°C pendant 1heure sous agitation continue.

Laisser refroidir, filtrer et récupérer les phases liquide et solide.

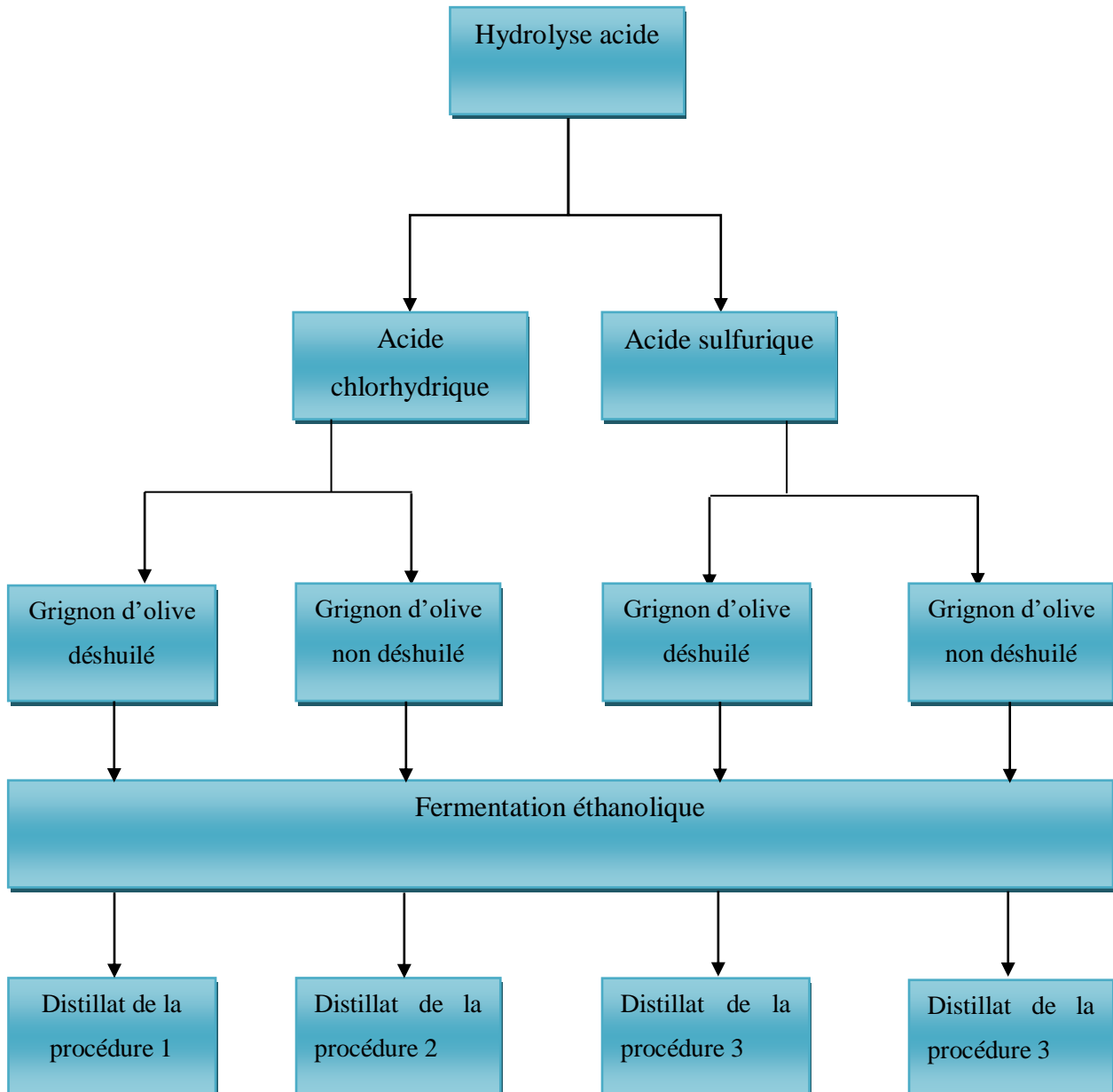
Deuxième hydrolyse de la phase solide (non dissoute) avec de l'acide HCl à une concentration massique de 22,2 % (m/m) sous agitation pendant 15 minutes à la température ambiante.

Mélanger les deux hydrolysats (phases liquides) issus des deux hydrolyses précédentes. Le PH du mélange acide est ajusté avec une solution de NaOH 10N jusqu'à obtention de Ph = 4,5. Ce mélange est prêt pour l'étape de la fermentation.

B. Hydrolyse à l'acide sulfurique :

Les mêmes étapes d'hydrolyse de la cellulose purifiée, effectuées avec HCl ont été reproduites en utilisant l'acide H₂SO₄ hormis que le rinçage de la cellulose se fait à l'acide sulfurique 40%, la première hydrolyse à l'acide sulfurique 8%, et la deuxième hydrolyse de la

phase solide à l'acide sulfurique 60%. Les étapes de traitement sont schématisées et représentées dans la figure 17.



IV. Fermentation des solutions hydrolysées – production du bioéthanol

Pour la fermentation des solutions finales riches en sucres (mouts) nous avons choisis la levure *saccharomyce cerevisiae*.

Cette levure est un micro-organisme unicellulaire qui est généralement de forme ellipsoïde, ovale ou sphérique. sa morphologie peut varier selon les conditions d'environnement ou leur état physiologique. La taille d'une levure peut varier entre 1 et 5 μm en largeur et 1 à 9 μm en longueur (Figure 18). Lorsqu'elles se trouvent dans des conditions favorables (milieu de culture, température, pH, aération, etc.), elles peuvent se diviser activement par bourgeonnement. Elle est constituée d'une paroi cellulaire, un noyau, des mitochondries, un réticulum endoplasmique, un appareil de Golgi, des vacuoles, des vésicules de sécrétion ainsi qu'un réseau complexe de membranes extracellulaires et intracellulaires.

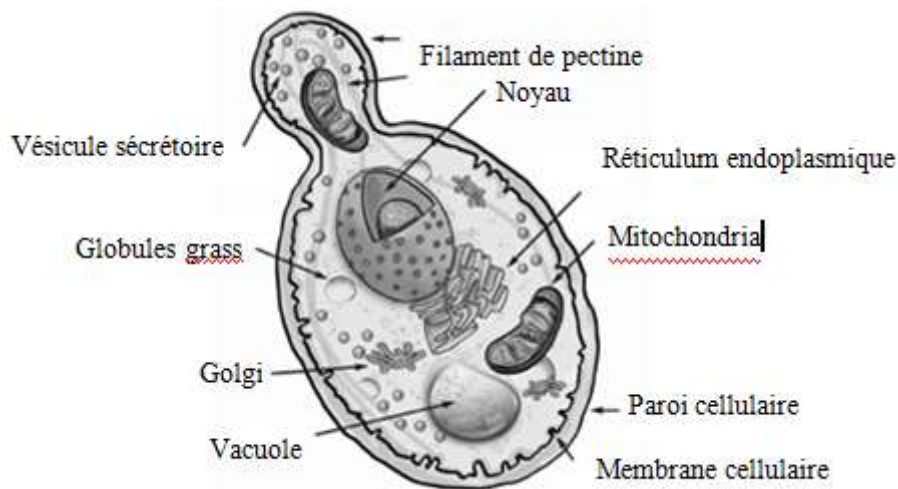


Figure 18 principales caractéristiques d'une cellule typique de *Saccharomyces cerevisiae*
[99]

1. Procédure de fermentation

La première étape consiste à activer la levure utilisée (*Saccharomyces cerevisiae*). La procédure consiste à introduire 10 g de la levure dans 100 ml de moût contenu dans un bêcher, préalablement stérilisé à 120°C. Le mélange obtenu est agité en continue pendant 15 minutes en anaérobie (à l'abri de O_2) et à une température de 30°C.

La deuxième étape consiste à rajouter le mélange, obtenu précédemment, au restant du moût produit et on laisse fermenter pendant 72 heures en anaérobie et à la température de 28 à 30°C.

Les étapes de fermentation citées au dessus sont appliquées pour l'ensemble des quatre hydrolysats obtenus par les différents modes de traitement décrits préalablement.

2. Distillation du bioéthanol

Afin de récupérer l'éthanol des quatre solutions fermentées issues des différents protocoles d'hydrolyse chimique une distillation est nécessaire.

La distillation est réalisée à une température atmosphérique de 78°C à 80°C. Cette étape est réalisée deux fois sur chaque échantillon afin de récupérer le maximum d'éthanol.

PARTIE III. RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

I. Analyse et caractérisation.

1. Caractérisation du grignon :

Les valeurs du taux d'humidité, du taux de cendre et de la matière grasse dans les échantillons de grignon analysés sont regroupées dans le tableau (9).

Tableau 6. Caractéristiques des grignons d'olive

Paramètres		% en masse	Valeurs dans la littérature
Humidité	G.O.B	51,41% ± 0,110	50,23±1,935
	G.O.S	8,469 % ± 0,153	
Taux de cendres		2,28% ± 0,26	1,70±0,105
Taux de matière volatile		97,72%	_____
La matière grasse		3,005% ± 0,122	3,89±1,449

G.O.B : grignon d'olive brut.

G.O.S : grignon d'olive séché.

L'échantillon de grignon d'olive a une faible teneur en eau qui est inférieur à 10 %. Cette valeur a été déterminée sur un échantillon préalablement séché à l'aire libre (voir page 33). La teneur en cendres est de 2,28 % (voir annexe 1). Cette valeur est proche des autres valeurs rapportées dans le tableau 7. La matière volatile est prépondérante (97,72%), cela révèle la nature organique du grignon. La teneur en matière grasse est de 3,005%, comparée au taux rapporté dans le tableau 7, cette valeur est proche, le grignon d'olive utilisé dans cette étude est obtenu de procédé d'extraction de l'huile par centrifugation (moderne), caractérisé par des pertes négligeables en huile par rapport aux anciens procédés (voir annexe 2).

2. Caractérisation par spectroscopie infrarouge de la cellulose séparée

La figure 19 montre les spectres infrarouges de grignon d'olive brut et celui de la cellulose séparée. Les deux spectres sont presque similaires en ce qui concerne la présence et l'ampleur des régions spectrales. Les bandes de vibration les plus distinctes sont :

La bande centrée aux environs 3342 cm^{-1} correspond aux allongements -OH de la cellulose et de l'eau.

Les bandes centrées à 2921 cm^{-1} et 2858 cm^{-1} correspondent aux allongements C-H, CH_3 , et CH_2 .

La bande de vibration centrée aux environs 1707 cm^{-1} et 1730 cm^{-1} correspond aux allongements C=O.

L'épaulement à 1636 cm^{-1} peut être dû aux allongements C=C de la lignine.

Les bandes aux environs de 1215 cm^{-1} , 1457 cm^{-1} et 1500 cm^{-1} correspondent à la déformation CH_2 , et CH_3 .

Les bandes de vibration aux environs de 1029 cm^{-1} correspondent aux allongements C-O.

La bande centrée aux environs de 876 cm^{-1} correspond probablement à la déformation hors plans de la liaison C-H (aromatique) probablement de la lignine.

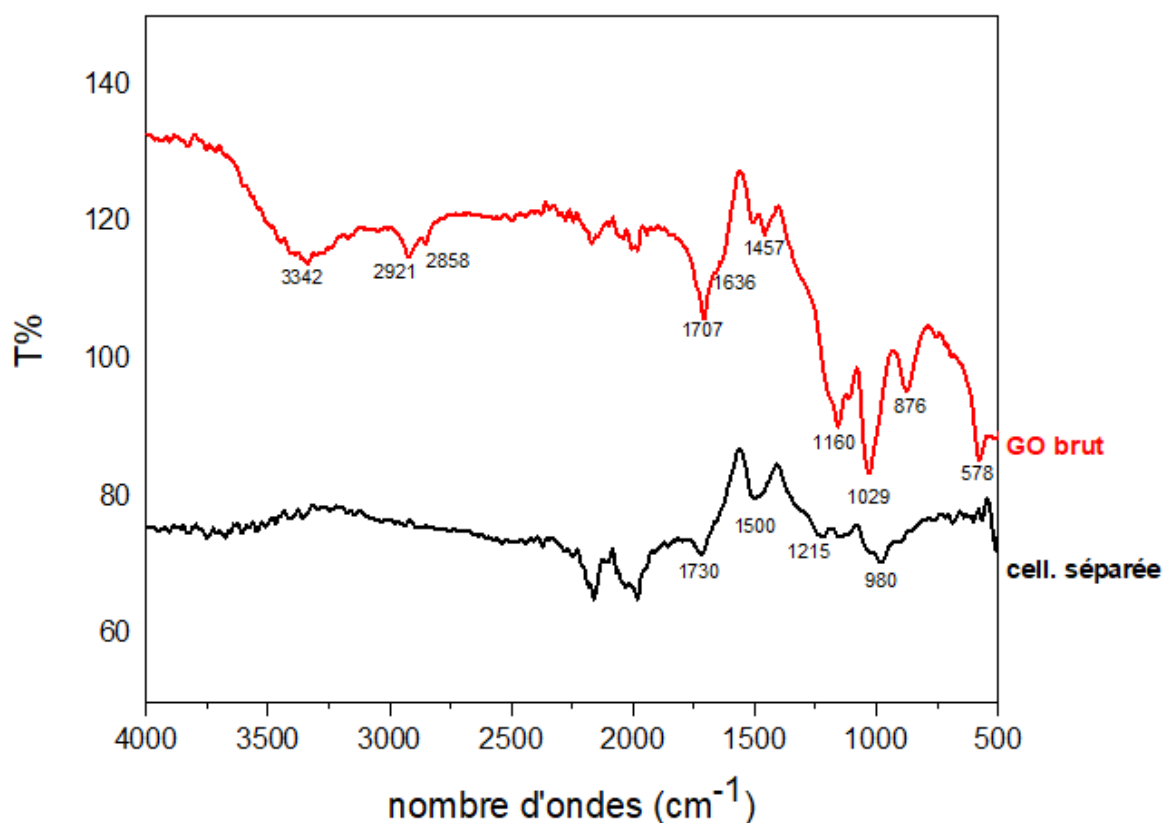


Figure 19. FTIR du GO brut et de la cellulose séparée

3. Analyse des sucres – dosage

Le dosage des sucres fournis après les opérations de traitement, d'hydrolyse, et de fermentation est effectué par la méthode de l'acide sulfurique / phénol [94 - 96], pour ce faire une droite d'étalonnage a été établie comme c'est indiqué dans la partie expérimentale et dont l'allure est représentée dans la figure 20.

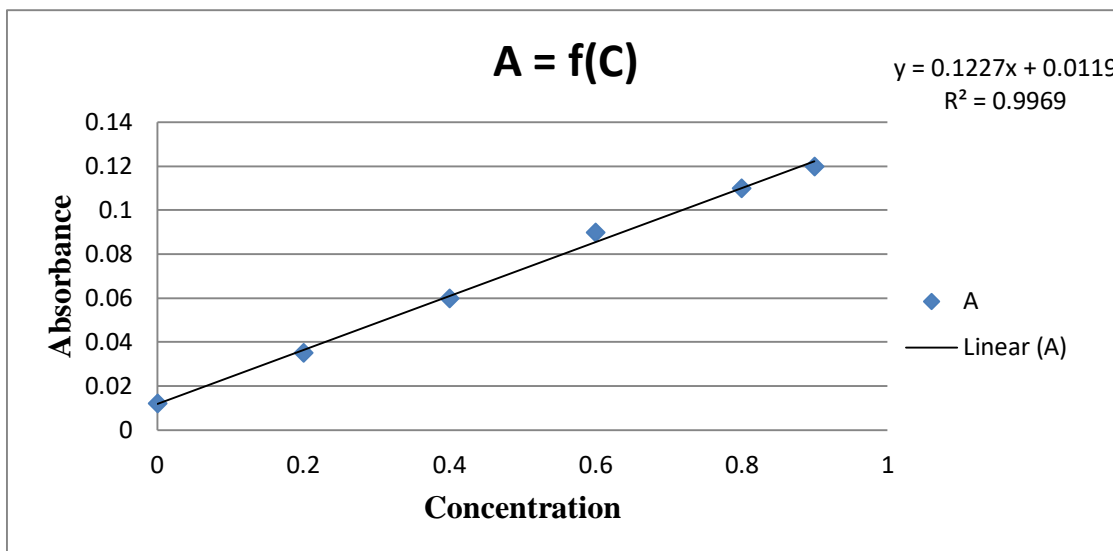


Figure 20: droite d'étalonnage du glucose.

. Les concentrations du glucose dans la droite sont exprimées en (g/l).

Cette méthode permet de doser le sucre du glucose.

4. Dosage du bioéthanol par chromatographie phase gazeuse

L'analyse par CPG des échantillons de bioéthanol formé a permis d'obtenir le chromatogramme représenté dans la figure 21

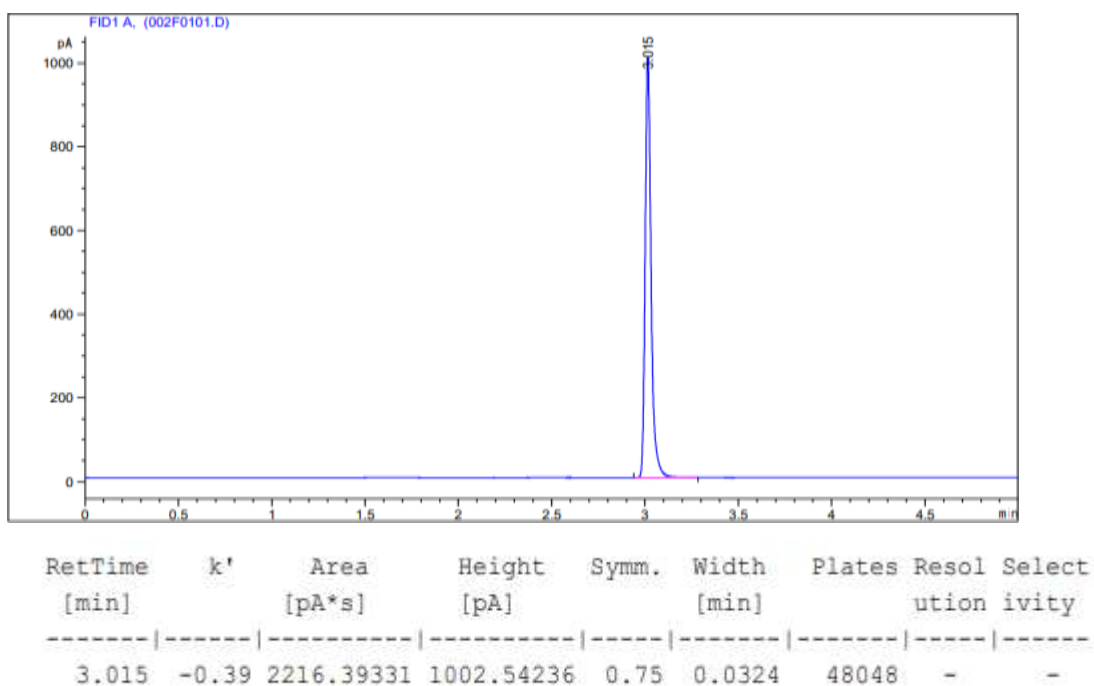
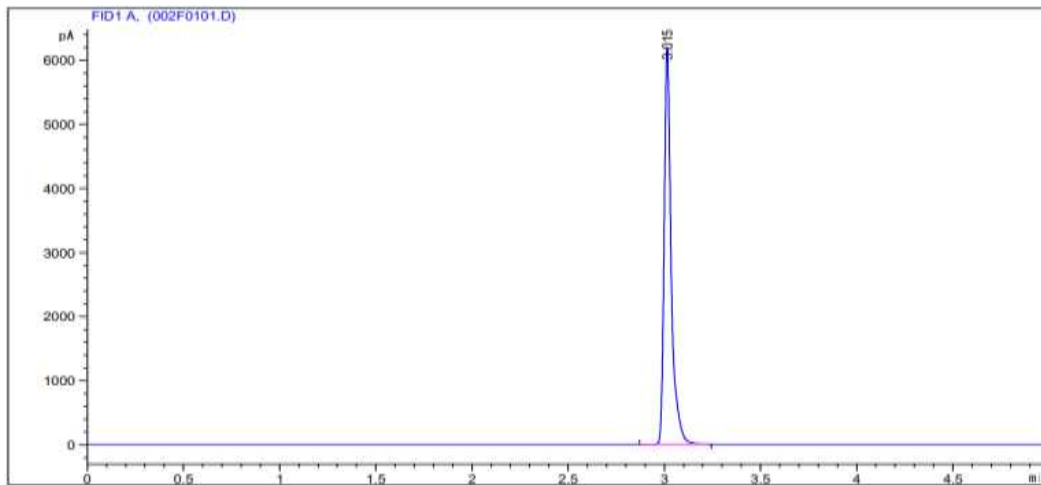


Figure 21. Chromatogramme de l'éthanol produit

Ce chromatogramme révèle un seul pic au temps de rétention $t_r = 3,01$ min dans les conditions opératoires appliquées. Il est identique au chromatogramme de l'éthanol étalon de marque (honeywell, pureté $\geq 99,8\%$, $\rho = 790\text{g/l}$).



RetTime [min]	k'	Area [pA*s]	Height [pA]	Symm.	Width [min]	Plates	Resol	Select ution	ivity
3.015	-0.39	1.57118e4	6145.63623	0.68	0.0357	39565	-	-	-

Figure 22. Chromatogramme de l'échantillon de l'éthanol étalon 1% (m/m)

Les chromatogrammes des différents échantillons des distillats sont donnés dans la partie annexe (voir annexe 3, 4, 5, 6).

Le dosage du bioéthanol est effectué grâce à la droite d'étalonnage établie comme c'est indiqué dans la partie expérimentale, cette droite est représentée dans la figure 23.

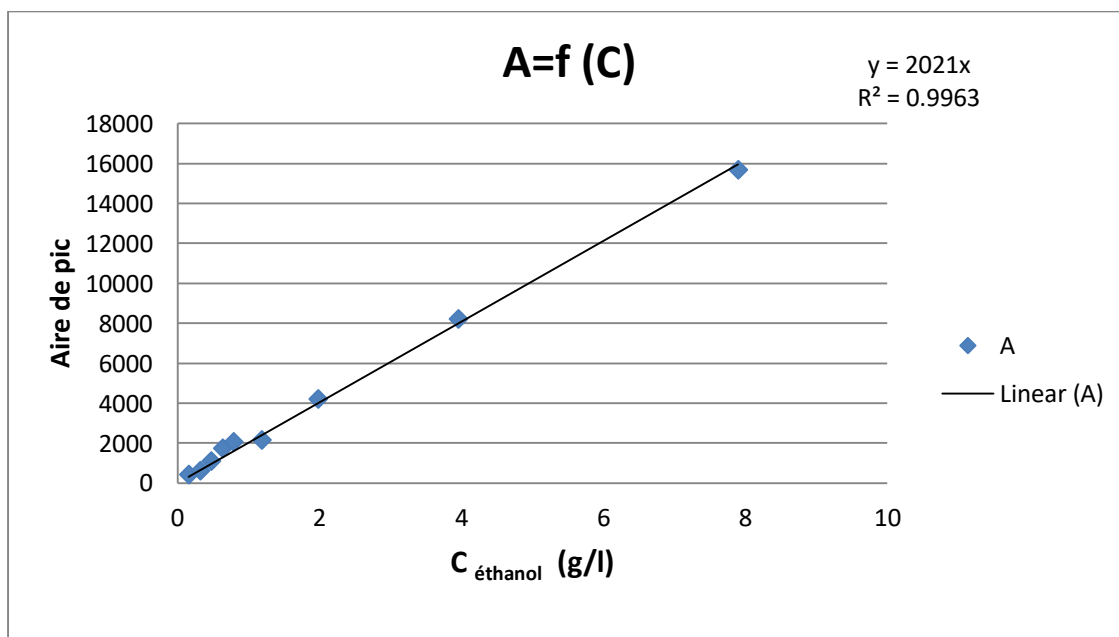


Figure 23. Courbe d'étalonnage de l'éthanol

II. Etude des procédures de traitement et d'hydrolyse acide – production des sucres.

Les taux de sucre formé par les différentes procédures sont donnés dans le tableau 10.

Tableau 7:taux de glucose formé par les procédures de traitement et d'hydrolyse.

Procédure	Taux de glucose formé (T _g %)
1	14,08
2	3,91
3	7,81
4	1,12

Tel que procédures 1, 2, 3 et 4 : voir figure 17 dans la partie expérimentale.

Le taux de glucose formé est calculé par rapport à la masse du grignon traité (25g) selon la relation suivante :

Équation 3

$$Tg\% = \frac{m_g}{m_G} \times 100$$

m_g : masse du glucose, déterminée à partir de la droite d'étalonnage.

m_G : masse du grignon = 25g pour l'ensemble des échantillon.

Dans le tableau précédant, les échantillons sont traités en suivant les mêmes étapes durant les quatre procédures. en utilisant soit du grignon déshuilé ou non respectivement.

Les résultats obtenus montrent que les taux obtenus par hydrolyse HCl sont supérieurs à ceux obtenus par hydrolyse H₂SO₄, cela peut être dû à l'action du HCl qui est relativement plus fort que H₂SO₄.

Les taux obtenus avec les échantillons de grignon déshuilé sont plus importants aussi. La présence de l'huile sur le grignon semble influencer négativement les différentes opérations de traitement.

III. Etude de la procédure de la fermentation – production du bioéthanol

Les taux de sucre fermenté sont donnés dans le tableau 11, et ce selon le cas de l'ensemble des procédures.

Tableau 8. Taux de sucre fermenté (Tf%)

Procédure	Taux de sucre fermenté (Tf%)
1	77,20
2	33,81
3	61,52
4	21,73

Le taux de glucose fermenté est calculé par rapport à la quantité de glucose formé dans les différentes procédures. Il est calculé par l'équation 4.

Équation 4

$$Tf\% = \frac{m_f}{m_g} \times 100$$

Tel que m_f : masse du sucre résiduel après fermentation, m_g : masse du glucose formé.

La comparaison des taux de sucre fermenté correspondant à chaque procédure est illustrée par l'histogramme de la figure 24.

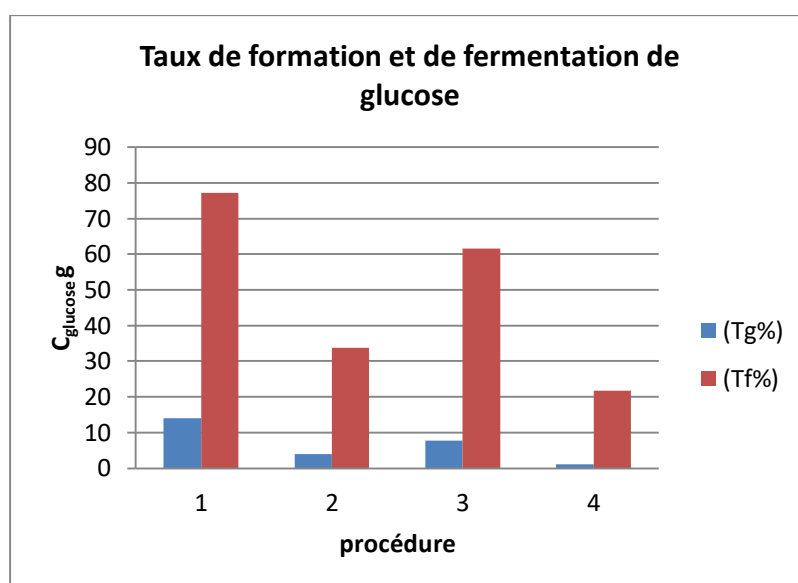


Figure 24. Histogramme représentatif des taux de formation fermentation de glucose

Les résultats montrent que les taux de fermentation obtenus dans les solutions issues de l'hydrolyse HCl sont supérieurs à ceux issues de l'hydrolyse H₂SO₄, cela peut être dû à l'étape de la séparation de la lignine.

Les taux de fermentation obtenus avec les échantillons de grignon déshuilé sont plus importants aussi. La présence de l'huile dans les moûts de fermentation semble influencer négativement l'étape de la fermentation éthanolique.

Les faible taux de fermentation de glucose peuvent être dues à la présence des inhibiteurs de la fermentation tel que le furfural et l'hydroxyméthyle furfural en engendrés par l'utilisation des acides forts concentrés dans les différentes procédures de prétraitements et d'hydrolyse [100].

A l'issue de l'opération de fermentation, les solutions obtenues sont soumises à la distillation, le distillat obtenu est incolore. Son chromatogramme révèle bien le pic de l'éthanol à $t_r = 3,01$. Les résultats du dosage de l'éthanol dans les différents distillats obtenus à partir de différentes procédures sont donnés dans le tableau 12.

Tableau 9. Taux de bioéthanol formé par les différentes procédures

Procédure	Taux de bioéthanol formé ($T_{\text{éth}}\%$)
1	4,38
2	0,67
3	2,32
4	0,13

Les quantités de l'éthanol formé ont été déduites à l'aide de la droite d'étalonnage de l'éthanol et les aires de pic sur les différents chromatogrammes.

Les taux de l'éthanol formé sont donnés par rapport à la masse initiale du grignon d'olive qui est de 25 g.

Conclusion générale :

Dans le présent mémoire de fin d'études nous avons montré la possibilité de produire du bioéthanol à partir d'une masse lignocellulosique issue du grignon d'olive.

Les étapes de production se sont déroulées selon un protocole bien défini, la biomasse lignocellulosique (BLC) a subi un prétraitement à l'acide dilué (H_2SO_4 2% m/m) afin de séparer l'hémicellulose, ensuite un prétraitement basique (NaOH 15% m/m) pour séparer la lignine.

Un protocole d'hydrolyse chimique a été appliqué à savoir le rinçage avec H_2SO_4 40% m/m, chauffage à reflux de la cellulose dans une solution de H_2SO_4 8% m/m, et enfin traitement par H_2SO_4 60% m/m à température ambiante de la phase non hydrolysée lors de la première hydrolyse.

Une extraction à l'hexane a été appliquée sur un autre échantillon de grignon d'olive afin d'extraire l'huile résiduelle, ensuite il a été hydrolysé selon le protocole ci-dessus.

Les mêmes expériences ont été refaites avec hydrolyse à l'acide chlorhydrique HCl .

A la fin, nous avons effectué une distillation pour purifier notre produit final, la distillation a été refaite en nombre de 03 fois.

De ces expériences nous avons obtenu de différents taux de formation de glucose pour des échantillons de 25 mg de G.O comme masse initiale de la BLC.

Après la fermentation du glucose à la levure *Saccharomyces cerevisiae* nous avons obtenu des taux de conversion de sucre allant de 21,73% jusqu'à 77,20% et dont les taux les plus importants sont observés dans les échantillons préalablement déshuilés, cela peut être dû à l'effet négatif de l'huile résiduelle sur l'étape de la fermentation, comme peut être dû aussi à la possibilité de présence des inhibiteurs de fermentation dans les échantillons due à l'utilisation des acides concentrés dans les différentes procédures.

En faisant une vue d'ensemble sur les tableaux de résultats obtenus on conclue que :

- En suivant les protocoles d'expériences nous avons abouti à la production du bioéthanol pur comme montré dans les chromatogrammes CPG et dans les conditions opératoires citées, ce qui fait du grignon d'olive un bon substrat cellulosique.
- Le grignon d'olive dépourvu de l'huile résiduelle et / ou traité et hydrolysé à l'acide chlorhydrique a montré des taux de production de sucre relativement plus importants en comparaison avec le grignon contenant de l'huile résiduelle et / ou traité et hydrolysé à l'acide sulfurique et par conséquent des taux de production plus importants en bioéthanol.

Références

1. Rafael L., Carlo S. K. L., Karen W., James C., Handbook of Biofuels Production. Processes and Technologies, Elsevier, Oxford, UK, p : 3, (2016).
2. Vicenza F., Lignocellulose conversion. Enzymatic and microbial tools for bioethanol production, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p : 2, (2013).
3. Wyman C. E., Handbook on Bioethanol Production and Utilization, Crc Press Inc (Verlag), p : 7-8, (1996).
4. Aouadi A., valorisation nutritionnelle et environnementale d'un sous-produit oléicole 'margines' via la réduction de la méthanogène ruminale, thèse de doctorat, Université L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, (2021).
5. Amrouni H., Fethallah R., Fahas M., Les exploitations oléicoles en Algérie ; quelle performance économique ?, Recherche Agronomique, Vol. 19, N° 1, p. 65-76, (2021).
6. Sansoucy R., Utilisation Des Sous-Produits De L'olivier En Alimentation Animale Dans Le Bassin Méditerranéen, Étude FAO Production Et Santé Animales, vol.43, p121, 1984.
7. Nefzaoui A., valorisation des sous-produits de l'olivier, CIHEAM-Options méditerranéennes. Série séminaires-N° 16-61-65, (1991).
8. Gaime- Perraud I., Labrousse Y. et Roussos S., Conservation des résidus de l'agroindustrie oléicole par ensilage: de l'isolement de bactéries lactiques endogènes à l'étude de faisabilité, Sfax : Institut de l'Olivier, p : 308-312, (2009).
9. Vazquez-Roncero A., Graciani-Constante E. et Maestro-Duran R., Componentes fenolicos de la aceituna. I. Polifenoles de la pulpa, Grasas y Aceites, 25, p : 269-279, (1974).
10. Amic A. et Dalmaso C., Unité de valorisation complète de déchets oléicoles par lombricompostage : Production de produits à haute valeur ajoutée : lombricompost, savon, collagène et lombrics, Thèse de doctorat de l'université Aix-Marseille France, (2013).
11. Laurent A., Barnouin A., L'olive, Genève Minerva, France, 140p, (2000).
12. Nefzaoui A., Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier : Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie, Étude FAO production et santé animales 43, Rome, (1984).

13. Chouchene A., Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique. Alimentation et Nutrition, Université de Haute Alsace – Mulhouse, France, (2010).
14. Topal H., Atimtay A.T., Durmaz A., Olive cake combustion in a circulating fluidized bed, *Fuel*, vol. 82, p 1049-1056, (2003).
15. Kademi A., Morin A., Ismaili-Alaoui M., Rossos S., Baratti J., Houde A., Growth Kinetics and Esterase/Lipase Production by Thermophilic Fungi Grown in Solid State Fermentation on Olive Cake, *New Horizons in Biotechnology*. Springer, Dordrecht p : 43-55, (2003).
16. Hammad M., Badarneh D., Tahboub K., Evaluating variable organic waste to produce methane, *Energy Conversion and Management*, vol. 40, p 1463-1475, (1999)
17. Martinez-Garcia G., Bachmann R.Th., Williams C.J., Andrea B., Edyvean R.G.J., Olive oil waste as a biosorbent for heavy metals, *International Biodeterioration and Biodegradation*, vol. 58, p 231-238, (2006).
18. Stasinakis A.S., Elia I., A.V. Petalas. , Halvadakis C.P., Removal of total phenols from olive-mill wastewater using an agricultural by-product olive pomace, *Journal of Hazardous Materials*, vol. 160, p 408–413, (2008).
19. Pagnanelli F., Toro L., Veglio F., Olive mill solid residues as heavy metal sorben material : a preliminary study, *Waste Management*, vol. 22, p 901-907, (2002).
20. Rubin E. M., Genomics of cellulosic biofuels, volume 454, numéro 7206, p. 841-845, London, United Kingdom (2008).
21. Larouche, R., Extraction, caractérisation et biotransformation de la lignine de Klason extraite de l'épinette blanche *Picea glauca* (Moench) voss, *Maîtrise en ressources renouvelables*, Université du Québec à Chicoutimi, (1993).
22. Sagne C, Chabrelie M.-F., Biocarburants de deuxième génération une nouvelle étape est franchie, *IFPEN - Panorama* (2015).
23. Grethlein, H.E., Acid Hydrolysis review. In *Anaerobic digestion and carbohydrate hydrolysis of Waste*, Elsevier, Londres, 14, (1985).
24. Sheldon R. A., ChemInform Abstract: Green and Sustainable Manufacture of Chemicals from Biomass: State of the Art, *Green Chem*, 16, P : 950-963, (2014).
25. Malherbe, S., Cloete, T., Lignocellulose biodegradation : Fundamentals and applications, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 1(2), pages : 105–114, (2002).

26. Kim, M., Day D. F., Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 38(7) p : 803–807, (2011).
27. Godin, B., Ghysel, F., Agneessens, R., Schmit, T., Gofflot, S., Lamaudière, S., Sinnaeve, G., Goffart, J.-P., Gerin, P. A., Stilmant, D. et Delcarte, J, Détermination de la cellulose, des hémicelluloses, de la lignine et des cendres dans diverses cultures lignocellulosiques dédiées à la production de bioéthanol de deuxième génération, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, p. 12, (2010).
28. Prasad, S., Singh, A. et Joshi, H, Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues, *Resources, Conservation and Recycling*, 50(1), p : 1–39, (2007).
29. Guimarães, J. L., Frollini, E., da Silva, C. G., Wypych, F. et Satyanarayana, K. G., Characterization of banana, sugarcane bagasse and sponge gourd fibers of Brazil, *Industrial Crops and Products*, 30(3), p : 407–415, (2009).
30. Sanchez-Acuna J. C., Granados-Gomez M. M., Navarrete-Rodríguez, L. F., Rangel-Peraza J. G. et Bustos-Terrones Y. A, Obtaining Bioethanol through Hydrolytic Treatment of Agro-Industrial Banana Residues, *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 7(1), p : 60–72, (2018).
31. Nyachaka C., Yawas D., and Pam G., Production and performance evaluation of bioethanol fuel from groundnuts shell waste, *Am. J. Eng. Res.* 2(12), p : 303–312, (2013).
32. Fradinho D. M., Neto C. P., Evtuguin D., Jorge F. C., Irle M. A., Gil M. H. et Pedrosa de Jesus J, Chemical characterisation of bark and of alkaline bark extracts from maritime pine grown in Portugal, *Industrial Crops and Products*, 16(1), p : 23–32, (2002).
33. Schmidt O., *Wood and tree fungi: biology, damage, protection, and use*. Springer, New York, (2006).
34. Ramos L.P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials, *Quim Nova*, 26(6), p : 863–871, (2003).
35. Harinen S., Analysis of the top phase fraction of wood pyrolysis liquids, mémoire de master, département de chimie, Laboratoire de chimie appliquée, Université de Jyväskylä, (2004).

36. Zhao X., Song Y., Liu D., Enzymatic hydrolysis and simultaneous saccharification and fermentation of alkali/peracetic acid-pretreated sugarcane bagasse for ethanol and 2,3-butanediol production, *Enzyme Microb Technol*, 49, p : 413–419, (2011).
37. Disposition des fibrilles, microfibrilles et cellulose dans la paroi cellulaire végétale INTECH. <http://dx.doi.org/10.5772/61707>
38. He J., Cui S., Wang S.Y., Preparation and crystalline analysis of high grade bamboo dissolving pulp for cellulose acetate, *J Polym Sci*, 107, p : 1029–1038, (2010).
39. Hall M., Bansal P., Lee JH., Realff MJ., Bommarius A., Cellulose crystallinity—a key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. *FEBS J*, (2010).
40. Scheller H.V., Ulvskov P., Hemicelluloses, *Annu Rev Plant Biol*, 61, p : 263–289, (2010).
41. Kirk T.K., Cullen D., Enzymology and molecular genetics of wood degradation by whiterot fungi, *Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry*, John Wiley and Sons, New York, p : 273–307, (1988).
42. Zaldivar J., Nielsen J., Olsson L., Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration, *App Microbiol Biotechnol*, 56, p : 17–34, (2001).
43. Ramos, L. P., The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials, *Química Nova*, 26(6), p : 863–871, (2003).
44. Lee H.V., Hamid S.B., Zain S.K., Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: structure and chemical process, *Sci World J*, (2014).
<https://doi.org/10.1155/2014/631013>
45. Windeisen E., et Wegener G., Significance, Analysis and Potential of Utilization of Extractives from Wood: Different Aspects and Examples, *Mater. Sci. Forum*, 599, p : 79–106, (2009).
46. Kebbi-Benkeder Z., Colin F., Dumarçay S., et Gérardin P., Quantification and characterization of knotwood extractives of 12 European softwood and hardwood species, *Ann. For. Sci*, 72, p : 277–284, (2015).
47. García-Olivares A., Solé J. et Osychenko O., Transportation in a 100 % renewable energy system, *Energy Conversion and Management*, 158, p : 266–285, (2018).
48. Champagne P., Chapter 9 - Biomass, in T. M. Letcher (ed.), *Future Energy*, Elsevier, Oxford, p : 151–170, (2008).

49. Escobar J. C., Lora E. S., Venturini O. J., Yáñez E. E., Castillo E. F. et Almazan O., Biofuels : Environment, technology and food security, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(6), p : 1275–1287, (2009).
50. Naik S. N., Goud V. V., Rout P. K. et Dalai A. K., Production of first and second generation biofuels : A comprehensive review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), p : 578–597, (2010).
51. Maarouf A. A., Production de bioéthanol à partir d'une biomasse lignocellulosique multiressources locale par prétraitement Organosolv et hydrolyse enzymatique, *Génie des procédés*, Université Clermont, Auvergne, (2020).
52. Tamers M., Distinguishing Between Bio-ethanol and Petroleum Ethanol, *Ethanol Producer Magazine*, (2006).
53. Heerden J., Botha J. et Roets P., Comparison between Sasol fuel alcohol and pure ethanol as a gasoline oxygenate, *Présentation au XIVe symposium international sur les carburants à base d'alcool*, (2002).
54. Cardona C. A. et Sanchez O. J., Fuel ethanol production : Process design trends and integration opportunities, *Bioresource Technology*, 98(12), p : 2415–2457, (2007).
55. IFPEN (2017). Quel avenir pour les biocarburants ? <https://www.ifpennergiesnouvelles.fr/enjeux-et-prospective/decryptages/energies-renouvelables/quel-avenir-les-biocarburants>, consulté le 26/09/2022.
56. Brodeur G., Yau E., Badal K., Collier J. K., Ramachandran B., et Ramakrishnan S., Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass, *Enzyme Res*, 787532, (2011).
57. Ogier J. C., Leygue J. P., Ballerini D., Pourquie J., et Rigal L., production d'éthanol a partir de biomasse lignocellulosique, *Oil & Gas Science and Technology - Revue IFP Vol. 54, No.1*, p : 67-94, (1999).
58. Ruben M. C., *Bioethanol and natural resources : substrates, chemistry and engineered systems*, CRC Press, 9781315154299, USA, Boca Raton, p : 37, (2017).
59. McCabe W. L., Smith J.C., Harriot P., *Unit operations in chemical engineering*, 5th edn. Book Company, New York, (1993).
60. Gauto M.A., Rosa G. R., *Processos e Operações Unitárias da Indústria Química*. Ciência Moderna Ltda, Rio de Janeiro, (2011).
61. Pedersen M., Johansen K. S., et Meyer A. S., Low temperature lignocellulose pretreatment: Effects and interactions of pretreatment pH are critical for maximizing

- enzymatic monosaccharide yields from wheat straw. *Biotechnol Biofuels*, 4, (11), (2011).
62. Baruah J., Nath B.K., Sharma R., Kumar S., Deka R.C., Baruah D.C., Kalita E., Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products, *Front. Energy Res.* 6:141, (2018). <https://doi.org/10.3389/fenrg.2018.00141>.
63. Amin F.R., Khalid H., Zhang H. et al., Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion, *AMB Expr*, 7, 72 (2017).
<https://doi.org/10.1186/s13568-017-0375-4>
64. Lloyd T.A., Wyman C.E., Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids, *Bioresour Technol*, 96, p :1967–1977, (2005).
65. Kumar P., Barrett D.M., Delwiche M.J., Stroeve P., Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production, *Indus Eng Chem Res*, 48, p : 3713–3729, (2009).
66. Mussatto S.I., Roberto I.C., Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewers spent grain, *J Chem Technol Biotechnol*, 81, p : 268–274, (2006).
67. Kumar A.K., Sharma S., Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. *Bioresour. Bioprocess.* 4, 7 (2017).
<https://doi.org/10.1186/s40643-017-0137-9>
68. Badiei M., Asim N., Jahim J.M., Sopian K., Comparison of chemical pretreatment methods for cellulosic biomass, *Procedia Soc Behav Sci*, 9, p : 170–174, (2014).
69. Mudhoo A., *Biogas production: pretreatment methods in anaerobic digestion*, Scrivener Publishing, Massachusetts, (2012).
70. Sun F.F., Zhao X., Hong J. et al., Industrially relevant hydrolyzability and fermentability of sugarcane bagasse improved effectively by glycerol organosolv pretreatment, *Biotechnol Biofuels* 9, 59 (2016). <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0472-7>
71. Singh J., Suhag M., Dhaka A., Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods, *Carbohydr Polym*, 117, p : 624–631, (2015).
72. Sakuragi K., Igarashi K., Samejima M., Application of ammonia pretreatment to enable enzymatic hydrolysis of hardwood biomass, *Polym Degrad Stab.*, 148, p : 19–25, (2018).

73. Oladi S., Aita G.M., Optimization of liquid ammonia pretreatment variables for maximum enzymatic hydrolysis yield of energy cane bagasse, *Ind Crops Prod*, 103, p : 122–132, (2017).
74. Knappert D. R., Grethlein H. E., Converse A. O., Partial acid hydrolysis of poplar wood as a pretreatment for enzymatic hydrolysis, *Biotechnol Bioeng*, 11, p : 67-77, (1981).
75. Badger P. C., Ethanol from cellulose: A general review, In: J. Janick and A. Whipkey (eds), *Trends in New Crops and New Uses*, ASHS Press, Alexandria, VA, p : 17-21, (2002).
76. Yang B., Wyman C. E., Effect of xylan and lignin removal by batch and flow through pretreatment on the enzymatic digestibility of corn stover cellulose, *Biotechnol Bioeng*, 86(1), p : 88±95, (2004).
77. Pérez J., Muñoz-Delgado J., de la Rubia T. et Martínez J., Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview, *Inter Microbiol*, 5, p : 53±63, (2002).
78. Wojtczak G., Breuil C., Yamada J. et Saddler J. N., A comparison of the thermostability of cellulases from various thermophilic fungi, *Appl Microbiol Biotechnol*, 27-1, p : 82-87, (1987).
79. Valaskova V. et Baldrian P., Degradation of cellulose and hemicelluloses by the brown rot fungus *Piptoporus betulinus* production of extracellular enzymes and characterization of the major cellulases, *Microbiol*, 152,p : 3613-3622, (2006).
80. Bayer E.A., Belaich J.P., Shoham Y. et Lamed R., The cellulosomes: multienzyme machines for degradation of plant cell wall polysaccharides, *Annual Review of Microbiology*, 58, p : 521-554, (2004).
81. Dimarogona M., Topakas E., Christakopoulos P., Cellulose degradation by oxidative enzymes, 2 : (3), e201209015, (2012).
<http://dx.doi.org/10.5936/csbj.201209015>
82. Miljković B., Pešenjanski I., Vićević M, Mathematical Modeling of straw combustion in a moving bed combustor: A two dimensional approach, *Fuel*, 104, p : 351- 364, (2013).
83. Lee F-M. et Pahl R. H. (1985), Solvent screening study and conceptual extractive distillation process to produce anhydrous ethanol from fermentation broth, *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.*, 24, 1,p : 168–172, (1985).

84. Kovach III J. W et Seider W. D., Heterogeneous azeotropic distillation-homotopycontinuation methods, *Comput Them Engng*, 11(6), p : 593±605, (1987).
85. Chianese A. et Zinnamosca F., Ethanol dehydration by azeotropic distillation with a mixed-solvent entrainer, *Chem Eng J*, 43, p : 59±65, (1990).
86. Luyben W. L., Control of a multiunit heterogeneous azeotropic distillation process, *AIChE J*, 52(2), p : 623-637. doi: 10.1002/aic.10650, (2006).
87. Wasylkiewicz S. K., Kobylka L. C. et Castillo F. J. L., Synthesis and design of heterogeneous separation systems with recycle streams, *Chem Eng J*, 92, p : 201±208. doi: 10.1016/S1385-8947(02)00256-5, (2003).
88. Partin L. R., A case study in applying pc software: Flowsheet synthesis, *Proceedings of Chemputers 4: Computer Tools for the Chemical Process Industries*, Houston, Texas, p : 11-13, (1996).
89. Gomis V., Font A., Pedraza R. et Saquete M. D., Isobaric vapor-liquid and vapor-liquid-liquid equilibrium data for the system water + ethanol + cyclohexane, *Fluid Phase Equilibria*, 235, p : 7-10. doi: 10.1016/j.fluid.2005.07.015, (2005).
90. Albuquerque J.A., Gonzalez J., Garcia D., Cegarra J., Agrochemical characterization of "alperujo" a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction, *Bioresource Technology*, 91, p : 195 – 200,(2004).
91. Alba-Mendoza J., Ruiz-Gomez A., Hidalgo-Casado F., Edible fats and oils processing : basic principles and modern practices, chapter Technological evolution of the different processes for olive oil extraction, p : 341–347. Champaign, Illinois, USA : Am. Oil Chem. Soc., (1990).
92. Michael N. ; Constantinos P. H., *Olive Processing Waste Management : Literature Review and Patent Survey*, Elsevier, (2006).
93. Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J. et Templeton D., Determination of ash in biomass. Technical report, National Renewable Energy Laboratory, U.S. Department of Energy, (2005).
94. Michel Dubois K. A., Gilles J. K., Hamilton P. A., Rebers et Fred Smith, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, 28(3), (1956).
95. Ronald E. W., Terry E. A., Eric A. D., Michael H. P., David S. R., Steven J. S., Charles F. S., Denise S., Peter S., *Handbook of Food Analytical Chemistry : Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates*, A JOHN WILEY & SONS, INC., (2000).

96. Thomas M. W., et K. Mahalingeshwara B., *Methods in Enzymology : Cellulose and Hemicellulose*, chapter *Methods for Measuring Cellulase Activities*, p : 87–112, Academic Press, (1998).
97. Lavarack B.P., Griffin G.J., *The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products*, *Biomass Bioenerg*, 23, p :367–380, (2002).
98. Chen W.H., Ye S.C., Sheen H.K., *Hydrolysis characteristics of sugarcane bagasse pretreated by dilute acid solution in a microwave irradiation environment*, *Appl Energ.* doi: 10.1016/j.apenergy.2011.12.014 (in press), (2011).
99. Walker G.M., *Yeast Physiology & Biotechnology*, John Wiley & Sons : Chichester, UK, New York, NY, USA” (1998).
100. Sivers M. V. et Zacchi G., *A techno-economical comparison of three processes for the production of ethanol from pine*, *Bioresour Technol*, 51(1), p : 43–52, (1995).

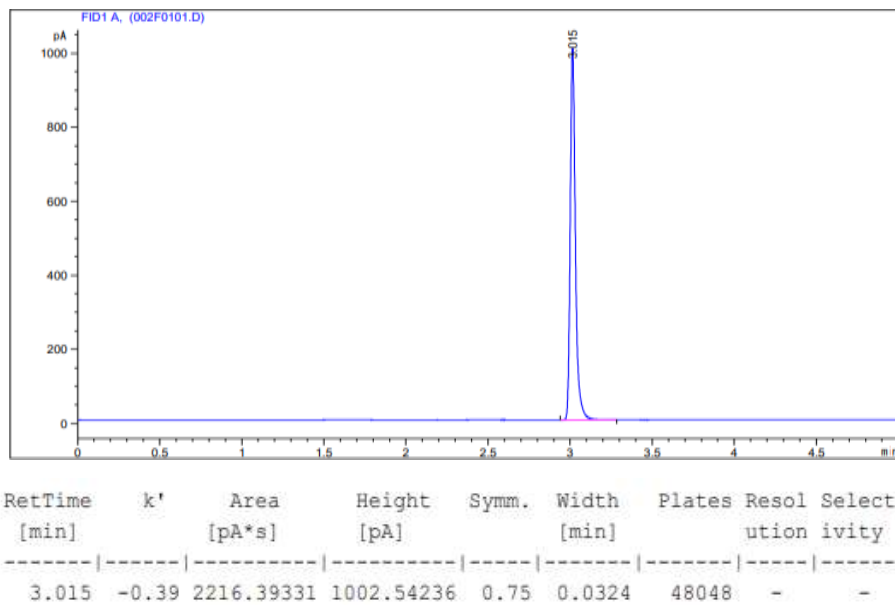
Annexes



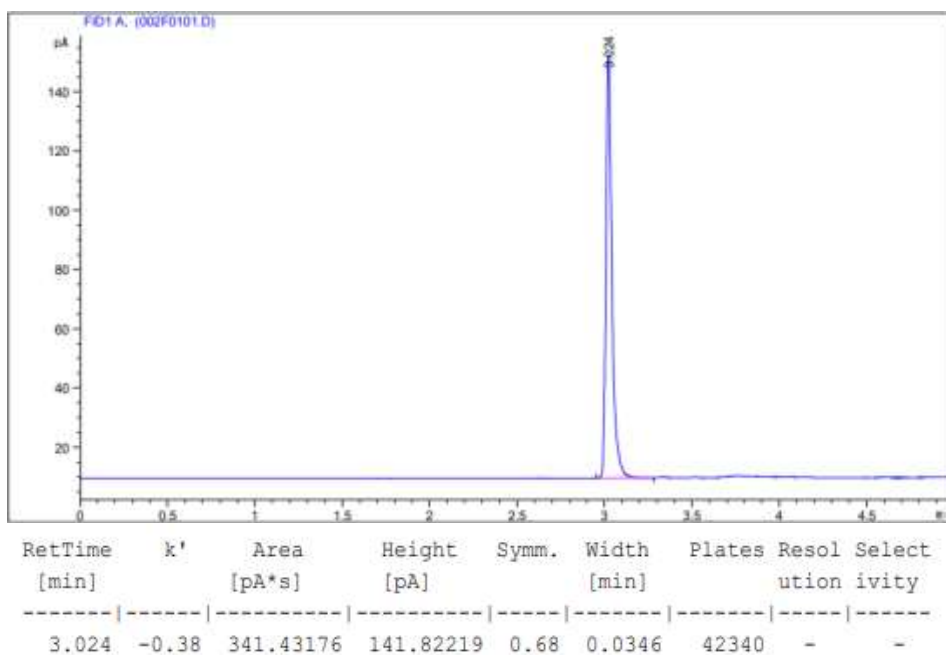
Annexe 1. Cendres de grignon d'olive.



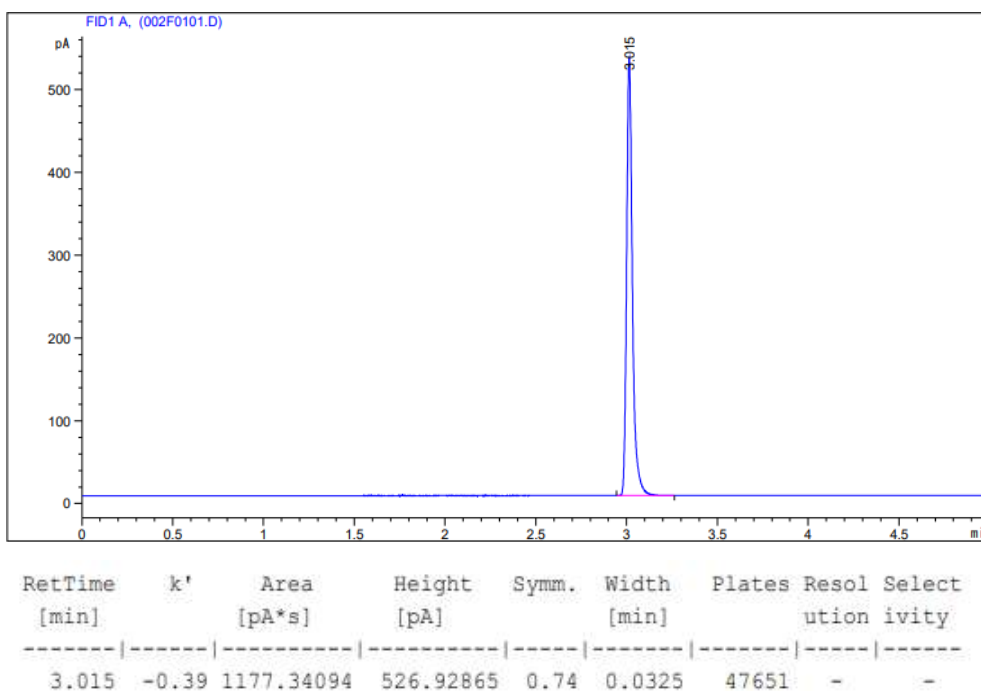
Annexe 2: phase organique récupérée de 100 g de G.O après distillation.



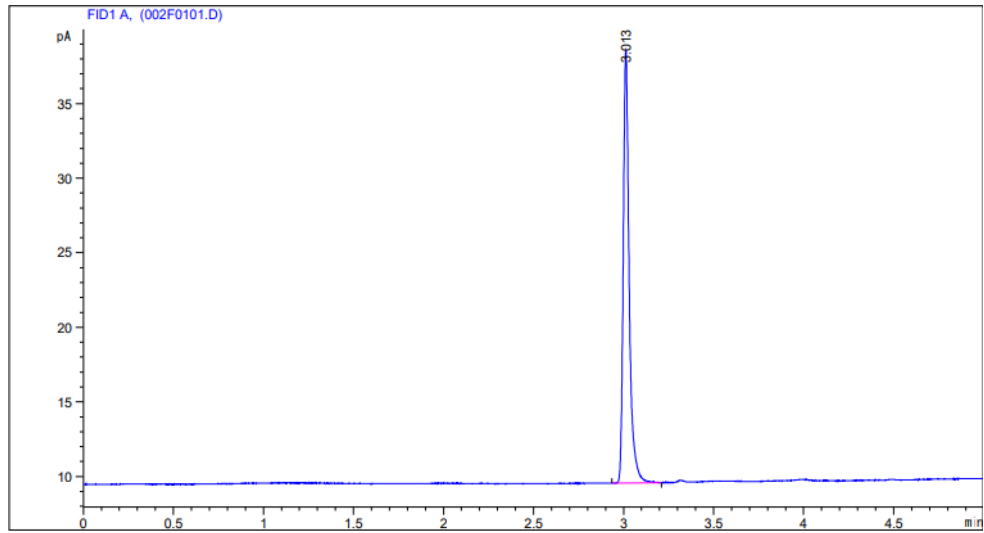
Annexe 3: chromatogramme du bioéthanol issu de la procédure 1.



Annexe 4: chromatogramme du bioéthanol issu de la procédure 2.



Annexe 5: chromatogramme du bioéthanol issu de la procédure 3.



RetTime [min]	k'	Area [pA*s]	Height [pA]	Symm.	Width [min]	Plates	Resol	Select
							ution	ivity
3.013	-0.39	66.38682	28.88065	0.70	0.0329	46415	-	-

Annexe 6: chromatogramme du bioéthanol issu de la procédure 4.

Résumé

Dans le présent projet fin d'études, nous avons procédé à la conversion du grignon d'olive -étant biomasse lignocellulosique - en bioéthanol en suivant les étapes suivantes :
Prétraitement physique, prétraitement chimique, hydrolyse purement chimique, fermentation éthanolique en anaérobie par l'action de la levure *saccharomyces cerevisiae* et distillation à la fin.

Nous avons réalisé des expériences de synthèse de bioéthanol en variant l'échantillon de grignon d'olive (déshuilé et non déshuilé), ainsi que l'acide utilisé pour l'hydrolyse pour faire - à la fin - une comparaison entre les quantités du bioéthanol produites et distinguer l'échantillon et le mode de traitement le plus efficace.

Abstract

In the present final project, we proceeded to the conversion of the olive pomace - being lignocellulosic biomass- to the bioethanol following the steps:
Physical pretreatment, chemical pretreatment, purely chemical hydrolysis, ethanolic fermentation in anaerobic by the action of the yeast *saccharomyces cerevisiae* and distillation at the end.

We have carried out bioethanol synthesis experiments varying the olive pomace sample (de-oiled and not de-oiled), as well as the acid used for hydrolysis, in order to make - at the end - a comparison between the quantities of bioethanol produced and to distinguish the sample and the most efficient treatment method.

ملخص

في في هذا المشروع النهائي ، قمنا بتحويل ثقل الزيتون - كونه كتلة حيوية ليجنو سليلوز - إلى إيثانول حيوي باتباع الخطوات التالية:
المعالجة الفيزيائية المسبقة ، المعالجة الكيميائية المسبقة، التحلل المائي الكيميائي البحت والتخمير اللاهوائي للإيثانول بفعل خميرة *Saccha romyces cerevisiae* والتقطير في النهاية.
لقد أجرينا تجارب تخليق الإيثانول الحيوي عن طريق تغيير عينة ثقل الزيتون (منزوعة الزيت وغير منزوعة الزيت) ، بالإضافة إلى الحمض المستخدم في التحلل المائي لإجراء - في النهاية - مقارنة بين كميات الإيثانول الحيوي المنتجة وتمييز العينة وطريقة العلاج الأكثر فعالية.