

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

*Université de Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi - Bordj Bou Arreridj*

*Faculté des Sciences et de la technologie*

*Département génie de l'environnement*

# **Mémoire**

*Présenté pour obtenir*

**LE DIPLOME DE MASTER**

FILIERE : génie des procédés

**Spécialité : génie des procédés del'environnement**

Par

- **Abdelmoudjib FANDI**
- **Ayoub BENZIANE**
- **Aimen RACHEDI**

Intitulé

## ***Valorisation des sous-produits agro-alimentaire (production de l'acide lactique)***

**Soutenu le : 30/06/2024**

**Devant le Jury composé de :**

<b>Devant le Jury composé de :</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>	<b>Etablissement</b>
<b>Mr.H.karce</b>	<b>MCB.</b>	<b>Président</b>	<b>Univ-BBA</b>
<b>Mr.A.Messis</b>	<b>Pr.</b>	<b>Encadreur</b>	<b>Univ-BBA</b>
<b>Mme.N. Maghraoui</b>	<b>MAA.</b>	<b>Examinatrice</b>	<b>Univ-BBA</b>
<b>Mr.A.Adjebli</b>	<b>MCA.</b>	<b>Co-encadreur</b>	<b>Univ-Béjaia</b>
<b>Mr.M.A.Chelabi</b>		<b>Partenaire socio-Économique</b>	<b>ACROIRIS Béjaia</b>

**Année universitaire 2023/2024**



## *Remerciement*

*Nous remercions, tout d'abord, Allah le tout puissant, qui nous a éclairci le chemin du savoir et nous a donné la volonté et la patience nécessaire pour la réalisation de ce modeste travail*

*Nous tenons à exprimer nos profondes gratitude reconnaissances à **Monsieur M. Abdelaziz Messis**, notre encadrant, pour sa guidance, son soutien et ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail. Son expertise, sa patience et sa disponibilité ont été précieuses et ont grandement contribué à l'aboutissement de ce projet.*

*Nous remercions chaleureusement **Monsieur Ahmed Adjebli** notre co-encadrant, pour son soutien précieux, ses conseils avisés et sa disponibilité tout au long de notre projet de recherche. Sa contribution a été essentielle à notre succès académique, et nous lui sommes reconnaissants pour son engagement et sa guidance.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements à **M. Mohand Akli Chalabi**, notre partenaire socio-économique, pour sa collaboration constructive et ses contributions substantielles qui ont enrichi notre travail et lui ont donné une dimension pratique et applicable.*

*Nous souhaitons remercier chaleureusement les membres de l'équipe de **CEM7AL** qui nous ont apporté les produits indispensables à notre projet. Leur expertise et leur capacité à gérer efficacement cette collaboration, ainsi que leur générosité et leur soutien, ont été d'une grande valeur et ont grandement contribué à la réussite de notre projet.*

*Nous adressons nos sincères remerciements aux membres du jury **Mr. H. karce** et **Mme. N. Maghraoui**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*



## Dédicaces

*AlhamdolilAllah tout puissant pour le don de la vie et qui m'a destiné la réussite dans mes études.*

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :*

*À la femme qui a été tant de chose dans ma vie : enseignante, infirmière, conseillère, psychologue, amie, Merci ma mère pour tous ces rôles que tu as endossé à merveille et d'avoir été là à chaque fois que j'avais besoin de toi.*

*À celui qui m'a permis de mieux comprendre le monde et à l'apprécier à sa juste valeur, qui est plus qu'un père mais aussi une source d'inspiration, un professeur et un ami.*

*À ma chère grand-mère, pour ses prières et son affection qu'elle me porte.*

*À mes chères sœurs et mes chers frères, qui ont partagé avec moi tout les moments d'émotions et qui n'ont pas cessé de me conseiller, de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études*

*À mon encadrant, s'il y'a vraiment quelqu'un à remercier ce sera vous "Mr. MESSIS", merci pour votre confiance et vos efforts très louables.*

*À tous mes professeurs de chaque étape d'étude, merci pour m'avoir guider pour le bon chemin.*

*À mes collègues Ayoub et Aymen, c'est avec gratitude et dévotion que je dédie ce modeste travail à vous tous, pour votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible.*

*À celle qui est mon soutien inébranlable, cette réalisation est dédiée à toi, ma source d'inspiration constante et mon bonheur infini.*

*Abdelmoudjib FANDI.*



## Dédicaces

*À mes chers parents, qui ont été mes guides constants et mes soutiens  
inébranlables tout au long de ma vie.*

*À mes deux merveilleuses sœurs, sources inépuisables de joie et de complicité,*

*À mon cher frère "Said", compagnon de jeux et de confidences,*

*À l'époux de ma sœur, qui enrichit notre famille de son amour et de sa  
présence,*

*À ma compagne de ma vie, qui illumine chaque jour de mon existence par  
sa présence précieuse et son amour infini.*

*À mes deux collègues "Abdou et Ayoub", qui m'ont beaucoup aidé dans ce  
mémoire et ont été un soutien constant tout au long de mes jours difficiles*

*À vous tous, je dédie mes accomplissements et mes succès, car c'est grâce à  
votre amour et à votre soutien que j'ai pu grandir et réaliser mes rêves. Que  
cette dédicace soit le témoignage de ma reconnaissance éternelle et de l'amour  
profond que je vous porte.*

*Avec tout mon amour et ma gratitude,*

*Aimene RACHEDI,*



## *Dédicaces*

*A mes chers parents,*

*Votre amour inconditionnel et vos sacrifices incessants ont façonné mon être et guidé mes pas. Que ce travail soit la réalisation de vos rêves les plus chers pour moi.*

*A mes frères, Boualem et Soufiane,*

*Vos encouragements fraternels et votre soutien indéfectible ont été une source de motivation inestimable tout au long de ce parcours.*

*A toute ma famille,*

*Merci pour votre présence constante, vos conseils précieux et votre affection indéfectible qui ont illuminé mon chemin.*

*A mes honorables enseignants,*

*Je vous suis reconnaissant pour votre expertise, votre patience et votre dévouement qui ont contribué à mon épanouissement intellectuel.*

*A mes amis sincères,*

*Votre amitié indéfectible et votre soutien indéfectible ont été une source de joie et de réconfort inestimables.*

*A mes collègues estimés,*

*Merci pour votre camaraderie, votre esprit d'entraide et votre collaboration précieuse qui ont rendu ce travail encore plus enrichissant.*

*Ayoub BENZIANE.*

## Liste des tableaux

**Tableau.1.** Composition chimique des mélasses de betterave et de canne (**D'après la méthode de calcul INRA 1988**)

**Tableau.2.** Les critères moyennes pour 100g de mélasse d'après (**MARKAL, 2014**)

**Tableau.3.** Teneur moyenne de mélasses en vitamines.

**Tableau.4.** Les propriétés physico- chimiques de l'acide lactique.

**Tableau.5.** Souches sélectionnées pour la production d'acide lactique et leurs performances.

**Tableau.6.** Matières premières de faible coût utilisées pour la production d'acide lactique.

**Tableau.7.** Performances des fermentations lactiques selon le mode de culture.

## Liste des abréviations

**BP:** bas produits.

**°C:** unité de la température en degré Celsius.

**CaCO<sub>3</sub>:** molécule de Carbonate de calcium.

**Ca (OH)<sub>2</sub>:** molécule de chaux éteinte.

**CH<sub>4</sub>:** Méthane

**CO<sub>2</sub>:** molécule de dioxyde de Carbone.

**H<sub>2</sub>O:** molécule d'eau.

**ISO:** Organisation Internationale de Normalisation.

**Kcal:** kilo calorie.

**Kg:** Kilogramme.

**Kj:** Kilojoules.

**Mg:** milligramme.

**MS:** Matière sèche.

**ND:** Non déterminé.

**PH:** potentiel hydrogène.

**UF:** Ultra filtration

**NAD<sup>+</sup>:** nicotinamide adénine dinucléotide

**NADH:** nicotinamide adénine dinucléotide

**ADP:** Adénosine 5'-diphosphate

**ATP:** adénosine 5'triphosphate

**SSP.:** Sous-espèce

**SP.:** Espèce inconnue

**PO<sub>2</sub>:** Pression partielle d'oxygène

**PCO<sub>2</sub>:** Pression partielle en dioxyde de Carbone

**UFC:** Ultra filtration coefficient

## Liste des figures

**Figure.1.** Organigramme illustrant les étapes de fabrication de la mélasse de CEVITAL

**Figure.2.** La formule structurale de l'acide lactique

**Figure.3.** Les deux isomères optiquement actifs de l'acide lactique

**Figure.4.** Les applications de l'acide lactique

**Figure.5.** Les étapes de la fermentation.

**Figure.6.** Bioréacteur discontinu batch

**Figure.7.** Un fermenteur de type continu

**Figure.8.** Bioréacteur de type Fed-Batch

**Figure.9.** Schéma du processus de la fermentation lactique.

**Figure.10.** La fermentation du glucose chez les bactéries lactiques : homolactique et hétérolactique

**Figure.11.** Échantillon de mélasse.

**Figure.12.** Préparation du milieu culture.

**Figure.13.** Préparation du pré culture

**Figure.14.** bain-marie avec une agitation permanente

**Figure.15.** Centrifugation (Sigma 6-16S).

**Figure.16.** Extraction liquide-liquide

**Figure.17.** Distillation fractionnée.

**Figure.18.** Après 72 heures de fermentation.

**Figure.19.** le point d'équivalence

**Figure.20.** L'extrait avant la neutralisation

**Figure.21.** L'extrait après la neutralisation

**Figure.22.** mesure de pH

# SOMMAIRE

---

Liste des tableaux .....	<a href="#">i</a>
Liste des abréviations .....	<a href="#">ii</a>
Liste des figures .....	<a href="#">iii</a>
Introduction générale.....	
<b>CHAPITRE I : NOTIONS GÉNÉRALES SUR LES SOUS PRODUITS.....</b>	
I.1. Définition et terminologie.....	3
I.1.1. Les sous-produit.....	3
I.1.2. Les co-produit .....	3
I.1.3. Les déchets .....	4
I.2. Classification des sous-produits .....	4
I.2.2 Classification selon l'état physique.....	5
I.2.3. Classification selon la composition chimique.....	8
<b>CHAPITRE II : LES MÉLASSES.....</b>	
II.1. Introduction .....	10
II.2. Définition de La mélasse .....	11
II.3. Les différents types de mélasses.....	11
II.3.1. Mélasse de canne à sucre .....	11
II.3.2. Mélasse de betterave sucrière .....	11
II.4. Composition de la mélasse .....	12
II.5. Caractéristiques physico-chimiques de la mélasse .....	14
II.5.1. La densité.....	14
II.5.2. La viscosité .....	14

# SOMMAIRE

---

II.5.3. La teneur en air .....	14
II.5.4. La pureté.....	14
II.5.5. Le Brix .....	14
II.6. Valorisation de la mélasse .....	14
II.6.1. Alimentation humaine .....	14
II.6.2. Alimentation animale.....	15
II.6.3. Production d'acide lactique .....	15
II.6.4. Production d'alcool éthylique .....	15
II.6.5. Production de vinasse .....	15
II.6.6. Production de vitamines .....	15
II.6.7. Production de lysine et d'acide glutamique .....	15
II.6.8. Production de levure de boulangerie.....	15
II.7. Étapes du raffinage du sucre et production de la mélasse process de CEVITAL.....	16
II.7.1. Affinage.....	16
II.7.2. Refonte .....	16
II.7.3. Carbonatation .....	16
II.7.3.1. Préparation du lait de chaux .....	16
II.7.3.2. Procès de la carbonatation.....	17
II.7.4. Filtration.....	17
II.7.5. Décoloration .....	17
II.7.6. Concentration .....	17
II.7.7. Cristallisation .....	18
II.7.7.1. Cuisson.....	18
II.7.7.2. Malaxage.....	18
II.7.7.3. Turbinage (déshydratation).....	18
<b>CHAPITRE III : L'ACIDE LACTIQUE.....</b>	
III.1. Généralité .....	21
III.2. Propriétés physicochimiques de l'acide lactique .....	22
III.3. Production d'acide lactique .....	23
III.3.1. La voie chimique .....	23
III.3.2. La voie enzymatique .....	23
III.3.3. Voies biotechnologiques (fermentation) .....	24

# SOMMAIRE

---

III.3.3.1 Micro-organismes utilisés .....	24
III.3.3.2 Milieux de culture .....	25
III.4. Applications de l'acide lactique.....	28
III.5. Fermentation lactique .....	28
III.5.1. La fermentation .....	28
III.5.2. Procédés de fermentation .....	29
III.5.3. L'évaporation de la lactique .....	34
III.5.3.1. Équation de la fermentation lactique.....	35
III.5.3.2 Types de fermentation lactique .....	35
<b>CHAPITRE IV : Matériels et méthodes .....</b>	<b>38</b>
<b>CHAPITRE V : Résultats et discussion .....</b>	<b>43</b>
Références bibliographiques .....	
LES ANNEXES.....	

# **INTODCUTION GÉNÉRALE**

## *INTRODUCTION GÉNÉRALE*

---

Les industries agro-alimentaires génèrent de par leur activité de transformation d'importantes quantités de déchets et sous-produits d'origine organique. Ceux-ci, lorsqu'ils sont rejetés dans la nature sans un traitement préalable, ont pour la plus part un impact négatif sur l'environnement.

La valorisation des sous-produits et les déchets agroalimentaires est l'une des ressources alternatives pouvant être la solution à la diminution de l'énergie fossile de la prochaine décennie, c'est une opportunité pour l'industrie agroalimentaire de développer de manière durable et innovante. [1]

La microbiologie industrielle et la biotechnologie impliquent les deux utilisent des micro-organismes pour atteindre des objectifs spécifiques, c'est-à-dire utilisés pour fabriquer de nouveaux produits ayant une valeur marchande supplémentaire, ou utilisés pour améliorer l'environnement. [1]

La canne à sucre est une plante sucrière dont le jus contient des molécules naturelles pouvant être valorisées comme l'acide lactique. Cet acide, présent en grande quantité dans le jus de canne, se retrouve tout long du procédé sucrier et dans les co-produits issus de cette industrie.

La mélasse est un produit qui provient du processus de raffinage du sucre roux de canne, sa présence en grande quantité au sein de la raffinerie de CEVITAL de Bejaïa, nous a poussé à mener cette étude afin de valoriser ce produit qui présente un grand potentiel pour la production de l'acide lactique en raison de sa teneur élevée en sucre. [2]

La production d'acide lactique par des micro-organismes s'est très bien développée depuis plus d'une dizaine d'années et souvent ce sont des procédés qui utilisent des substrats relativement coûteux (glucose, lactose et extrait de levure). Actuellement, différentes matières premières peu coûteuses servent de sources de carbone pour la production d'acide lactique, c'est le cas des mélasses. [3]

Donc, quel est l'objectif de la valorisation de sous-produits de mélasses par les bactéries lactiques?

## *INTRODUCTION GÉNÉRALE*

---

L'objectif de notre étude est donc d'analyser les possibilités de valorisation des mélasses, en identifiant les méthodes les plus promotteuses et les opportunités pour leur intégration dans des processus industriels durables.

**CHAPITRE I**  
**NOTIONS**  
**GÉNÉRALES SUR**  
**LES**  
**SOUS-PRODUITS**

## I.1. Définition et terminologie

### I.1.1. Les sous-Produits

Un sous-produit est un résidu qui se forme pendant la production, la transformation ou la distribution d'un produit fini, il représente un potentiel de ressources considérable. Leur valorisation est involontaire, imprévisible et accidentelle, ce qui permet de diminuer l'empreinte écologique, de générer de nouveaux produits et de favoriser l'économie circulaire.

Reference Un sous-produit ne doit pas être confondu avec un co-produit.

Un résidu ou un sous-produit peut être:

- Dans le domaine de l'alimentation: un résidu de la récolte ou de l'élaboration des aliments.
- Dans le domaine de la biologie, l'un des composants des macromolécules est constitué des bases azotées des acides nucléiques, des acides aminés des polypeptides, ainsi que des monosaccharides qui forment les polysaccharides. En chimie : Matériau obtenu en soumettant un échantillon à un chauffage plus ou moins intense, par exemple en chimie analytique : extrait sec et teneur en cendres ; produit de distillation.
- Dans le domaine d'écologie : les déchets issus de processus chimiques ou physiques. [4]

### I.1.2. Les co-produits

Un coproduit est un matériau intentionnel et inévitable qui est produit simultanément avec le produit principal au cours du processus de fabrication. Le produit principal et le coproduit doivent respecter des spécifications spécifiques et peuvent être directement utilisés à des fins spécifiques. [4]

La valeur économique des coproduits est déterminée par divers facteurs, tels que l'existence d'un marché spécifique pour le coproduit et sa cotation dans l'industrie.

En effet, à partir du moment où l'on cherche à valoriser un déchet, celui-ci devient un coproduit.

Exemples de coproduits :

- **Coproduits de l'équarrissage des animaux** : farine animale, plumes de volaille.
- **Coproduits de la fabrication du fromage** : lactosérum (ou petit-lait).

- **Coproduits de la production du sucre** : pulpes de betterave, mélasse.
- **Coproduits de la sylviculture** : sciure et écorce. [4]

### **I.1.3. Déchet**

Conformément à la loi « n° 75-633 du 15 juillet 1975 », les déchets englobent tout objet restant ou mis au rebut résultant d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation. Cela inclut les substances, matériaux, produits ou tout autre bien meuble que le destinataire a l'intention d'abandonner.

Vu sous l'angle environnemental, les déchets présentent un danger important dès qu'ils entrent en contact avec le milieu environnant. Un tel contact peut se produire soit directement, soit comme conséquence du traitement.

Sur le plan économique, un déchet est une matière ou un objet dont la valeur économique est nulle ou négative pour son détenteur à un moment et dans un lieu donné. Cette définition exclut une bonne part des déchets recyclables, qui possèdent une valeur économique, même faible. [4]

## **I.2. Classification des sous-produits**

### **I.2.1. Classification selon le l'origine**

La valorisation des sous-produits agroalimentaires est un enjeu crucial pour une gestion durable des ressources. Une classification basée sur l'origine des sous-produits peut faciliter leur gestion et leur valorisation. Cette classification permet de mieux comprendre les caractéristiques et les potentialités de valorisation de chaque type de sous-produit en fonction de son origine. [5]

**I.2.1.1 Sous-Produits Végétaux:** Les sous-produits végétaux proviennent de la transformation et de la production de fruits, légumes, céréales et autres plantes.

#### **- Résidus de cultures :**

Pailles, tiges, feuilles : Résidus de la culture des céréales et des plantes à fibres [5]

#### **Déchets de fruits et légumes :**

Épluchures, noyaux, pépins : Déchets générés lors de la transformation et de la consommation de fruits et légumes [6]

#### **- Coproduits de transformation :**

Marc de café, coques de cacao : Résidus générés lors de la transformation du café et du cacao. [7]

**I.2.1.2. Sous-Produits Animales:** Les sous-produits animaux proviennent de l'élevage, de la pêche et de la transformation des produits animaux.

- **Sous-produits de la viande :**

Os, cartilages, graisses : Sous-produits générés lors de l'abattage et de la transformation de la viande. [8]

- **Sous-produits de lait :**

Petit-lait, lactosérum : Sous-produits générés lors de la production de produits laitiers [9]

**I.2.1.3. Sous-Produits Marins:** Les sous-produits marins proviennent de la pêche et de la transformation des produits de la mer.

- **Sous-produits de la pêche :**

Arêtes, têtes, peaux : Sous-produits générés lors de la transformation des poissons et des fruits de mer. [10]

**I.2.1.4. Sous-Produits de la Transformation Alimentaire :** Les sous-produits de la transformation alimentaire proviennent de la transformation des matières premières agricoles en produits finis.

- **Additifs et auxiliaires de production :**

Résidus de traitement chimique : Résidus générés lors de l'utilisation d'additifs et d'auxiliaires de production. [11]

**I.2.2 Classification selon l'état physique:**

La valorisation des sous-produits agroalimentaires est cruciale pour une gestion durable des ressources. Une classification basée sur l'état physique (solide, liquide, gazeux) permet de mieux comprendre les caractéristiques de chaque type de sous-produit et d'orienter leur valorisation de manière efficace. [11]

**I.2.2.1. Solide:**

Les résidus de cultures tels que les pailles, les tiges et les feuilles sont caractérisés par leur richesse en cellulose et lignine. Leur valorisation comprend principalement le compostage, la production de litière pour animaux et la transformation en bioénergie. Ces processus permettent non seulement de gérer efficacement les déchets agricoles, mais aussi de générer des ressources utiles pour l'agriculture et l'énergie renouvelable, contribuant ainsi à une économie circulaire et durable.[5]

Les déchets de fruits et légumes tels que les épluchures, noyaux et pépins sont des déchets solides riches en fibres, vitamines et minéraux. Leur valorisation inclut le compostage, la fermentation et l'extraction de composés valorisables tels que les antioxydants ou les huiles essentielles. Ces méthodes permettent de réduire les déchets alimentaires, tout en créant des produits utiles comme des engrais naturels ou des ingrédients pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique. Cette approche contribue à promouvoir une économie circulaire en utilisant efficacement les ressources naturelles et en minimisant l'impact environnemental des déchets organiques.[6]

Les sous-produits de la viande tels que les os, cartilages et graisses sont des résidus solides provenant de la transformation de la viande. Ces matériaux sont valorisés principalement par la transformation en farines animales utilisées dans l'alimentation animale, ainsi que par la production de collagène pour divers usages industriels, notamment dans les cosmétiques et les produits pharmaceutiques. Cette valorisation permet de maximiser l'utilisation des ressources animales, réduisant ainsi les déchets tout en répondant à divers besoins industriels et commerciaux de manière efficace et durable.[8]

**I.2.2.2 Liquide:**

Les sous-produits de la transformation alimentaire comme le lactosérum et les jus de cuisson sont des substances liquides riches en nutriments. Leur valorisation inclut la production de biogaz par digestion anaérobie, la fabrication d'engrais liquide pour l'agriculture, ainsi que l'extraction d'ingrédients alimentaires comme les protéines et les sels minéraux. Ces processus permettent de réduire les déchets liquides industriels tout en générant des ressources énergétiques renouvelables et des produits utiles pour divers secteurs industriels, contribuant ainsi à une gestion durable des ressources et à la promotion de l'économie circulaire. [9]

Les eaux de lavage des légumes et les eaux de traitement des produits laitiers sont caractérisées par la présence de contaminants et de résidus provenant des processus industriels. Pour les purifier, différents traitements physico-chimiques et techniques d'épuration sont utilisés. Ces méthodes comprennent la filtration, la décantation, l'oxydation avancée et d'autres processus visant à éliminer les substances indésirables et à rendre les eaux aptes à être réutilisées dans des applications industrielles ou agricoles, ou à être rejetées de manière sécuritaire dans l'environnement. Ce traitement contribue à préserver la qualité de l'eau et à réduire l'impact environnemental des activités industrielles, en conformité avec les normes réglementaires et les pratiques de durabilité. [6]

### **I.2.2.3. Gazeux :**

Le biogaz est un gaz produit par la fermentation anaérobie de matières organiques telles que les résidus agricoles, les déchets alimentaires ou les boues de station d'épuration. Il est principalement composé de méthane ( $\text{CH}_4$ ) et de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ), avec des traces d'autres gaz comme le sulfure d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{S}$ ) et l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ). Ce gaz peut être valorisé de plusieurs manières : il peut être utilisé pour produire de l'électricité et de la chaleur par cogénération, pour le chauffage direct, ou encore injecté dans le réseau de gaz naturel après épuration pour être utilisé comme carburant. La valorisation du biogaz contribue à la production d'énergie renouvelable et à la réduction des émissions de gaz à effet de serre, en utilisant efficacement les déchets organiques pour répondre aux besoins énergétiques tout en favorisant la transition vers une économie circulaire et durable. [11]

Les vapeurs de cuisson et les gaz de combustion sont des émissions gazeuses issues des processus de cuisson et de combustion, comprenant principalement de la vapeur d'eau, du dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) ainsi que divers autres composés volatils. Pour maximiser leur utilisation et minimiser leur impact environnemental, il est courant de capturer ces gaz. Ils peuvent ensuite être valorisés comme source de chaleur directe pour des processus industriels ou domestiques, ou utilisés comme source de carbone dans la culture de micro-organismes utiles, tels que dans la production de biocarburants ou d'autres produits biotechnologiques. Cette approche contribue à une meilleure gestion des ressources énergétiques et à la réduction des émissions de gaz à effet de serre, en alignant les pratiques industrielles avec les principes de durabilité et d'économie circulaire. [12]

**I.2.3. Classification selon la composition chimique:****I.2.3.1. Organique:****- Résidus de cultures:**

**Pailles, tiges, feuilles:** Riches en cellulose et lignine, ils peuvent être valorisés par compostage ou pour la production de bioénergie. [13]

**- Coproduits de transformation:**

**Marc de café, coques de cacao, bagasse de canne à sucre:** Ces sous-produits sont utilisés pour la production de compost, d'extraits ou de bioéthanol. [7]

**- Sous-produits de lait:**

**Petit-lait, lactosérum:** Ils peuvent être utilisés comme ingrédients alimentaires ou pour la production de biogas. [9]

**- Déchets de fruits et légumes:**

**Épluchures, noyaux, pépins:** Riches en fibres et nutriments, ils peuvent être valorisés pour la production de jus, d'extraits ou d'additifs alimentaires. [6]

**Sous-produits de la viande:**

**Os, cartilages, graisses:** Ces sous-produits peuvent être utilisés pour la production de collagène, de graisses animales ou de biogas. [8]

**Biomasse:**

**Résidus de bois, de papier:** Ils peuvent être valorisés pour la production de bioénergie, de papier recyclé ou comme matériau de construction. [14]

**I.2.3.2. Inorganique:**

- **Cendres:**

**Cendres de biomasse :** Utilisées comme amendements pour le sol ou pour la production de ciments écologiques. [15]

- **Sels et minéraux:**

**Résidus de traitement de l'eau :** Utilisés comme amendements pour le sol ou pour la production de fertilisants. [16]

- **Additifs et auxiliaires de production:**

**Résidus de traitement chimique :** Nécessitent une gestion et une valorisation spécifiques pour éviter les impacts environnementaux. [11]

# **CHAPITRE II**

## **LES MÉLASSES**

## **II.1. Introduction :**

L'industrie sucrière implique la production du sucre à partir de plantes telles que canne à sucre ou la betterave sucrière. Elle a été développée à l'origine avec la canne à sucre dans les colonies européennes des Caraïbes et des Mascareignes, et an ensuite été abordé dans l'industrie de la betterave sucrière qui a émergé en Europe au 19<sup>ème</sup> siècle. [17]

Dans l'industrie sucrière, la production de sucre est accompagnée d'un sous-produit souvent négligé mais pourtant riche en potentiel.

La mélasse désigne le principal sous-produit de préparation du sucre cristallisé à partir de la betterave sucrière, canne à sucre ou de raffinerie. Elle se présente sous forme d'un résidu sirupeux, pâteux visqueux, de coloration brun noirâtre, incristallisable. [18, 19]

CEVITAL est l'un de ces établissements agroalimentaires qui jouent un rôle essentiel dans l'économie algérienne.

Le but de ce complexe agroalimentaire est de produire une mélasse dont la pureté aussi basse que possible, conforme, de point de vu, réglementation et qualité commerciale, pour répondre à la concurrence nationale et internationale et assure une amélioration durant son existence tout en appliquant les normes internationales ISO 9001 et ISO 22000.

CEVITAL a une capacité de production de 50 tonne de mélasse par jour, équivaut à 18000 tonne par an, elle exporte 5800 tonne de mélasse chaque trois mois avec une autonomie de stockage 7000 tonne. [20]

Notre travail est consisté à suivre les différentes étapes de raffinage du sucre au niveau de CEVITAL qui amènent à la récupération de la mélasse comme un déchet à la fin de raffinage.

## II.2. Définition de La mélasse :

La mélasse (du latin mellaces signifiant miel, ou du grec ancien μέλας melas signifiant noir) est une mixture résultant du raffinage du sucre extrait de la betterave sucrière ou de la canne à sucre après refonte, épuration, décoloration, concentration et cristallisation du sirop. [21]

La mélasse est le résidu final obtenu, lors de l'extraction du saccharose par évaporation, cristallisation et centrifugation du jus à partir de la canne à sucre ou de la betterave sucrière. La mélasse se présente sous forme d'un résidu sirupeux, pâteux et visqueux de couleur brune noirâtre, incristallisable, elle est obtenue après le turbinage de la cuite du dernier jet. [22]

## II.3. Les différents types de mélasses :

### II.3.1. Mélasse de canne à sucre

Un coproduit issu de la fabrication ou du raffinage du sucre provenant de la canne à sucre *Saccharum officinarum*, où la teneur en sucre totaux est supérieur à 46%, l'humidité est de 27%, la densité est supérieure à 79,5°Brix, le pH varie entre 4 et 6. [22, 23]

La mélasse de canne à sucre est un résidu du raffinage du sucre qui se forme lors de la cristallisation du sirop de canne à sucre. On l'emploie souvent comme nourriture pour animaux ou comme biomasse pour la fabrication d'éthanol, de glutamate et d'acide lactique. Plusieurs composants phénoliques issus de la canne à sucre sont également présents dans la mélasse, ainsi que des quantités importantes de sucre et de minéraux. La mélasse de canne à sucre se compose essentiellement de saccharose, d'eau, de minéraux (calcium, fer, potassium, magnésium, manganèse) et d'antioxydants (polyphénols). [24]

### II.3.2. Mélasse de betterave sucrière

C'est le sous-produit de fabrication ou de raffinage du sucre à partir de sucre de la betterave sucrière. Sa teneur en sucre totaux est supérieure à 48%, sa teneur en matière sèche est inférieure 79°Brix et son pH varie entre 6 et 8. [22, 25].

Selon **Willay, (2010)**, neuf étapes principales permettent d'extraire le sucre contenu dans les betteraves: la récolte, le lavage, le découpage en fines cossettes, la diffusion, la filtration, la décoloration, l'évaporation, la cristallisation. Il convient que le coproduit résultant subit une série d'épuisement jusqu'à l'obtention de la mélasse. [26]

#### II.4. Composition de la mélasse :

La composition des différentes formes de mélasse varie selon le pays d'origine, le procédé de fabrication, la saison et les conditions de stockage. Elle varie selon la variété de canne et de betterave sucrière, la maturité, les conditions climatiques, les propriétés du sol et les procédés de clarification. [27]

Par conséquent ces variations peuvent affecter le contenu nutritionnel, la saveur, la couleur, la viscosité et la teneur en sucres totaux de mélasse. [22]

La composition moyenne de la mélasse est indiquée dans les tableaux ci-dessous:

**Tableau.1.** Composition chimique des mélasses de betterave et de canne (D'après la méthode de calcul INRA 1988).

Paramètres de mesure	Mélasse de betterave	Mélasse de canne
Matière sèche (%)	73	73
Matière Minérales (%)	13	14
Matière azotées totales	15	6
Sucres totaux	64	64
Calcium (g/Kg MS)	3,7	7,4
Phosphore (g/Kg MS)	0,3	0,7
Potassium (g/Kg MS)	82	40

La mélasse contient de petites quantités de cellulose brute et de graisse. Les quelques acides aminés présents dans les deux mélasses sont la lysine, la méthionine, la cystine, le tryptophane et la thréonine. La mélasse de betterave, en revanche, contient de grandes quantités de bétaine et d'acide glutamique (4-5 % de la MS). La mélasse de betterave contient principalement des acides organiques (6-8%): acide lactique, acide malique, acide acétique et acide oxalique. En revanche, la mélasse de canne à sucre contient davantage de gommés solubles et de complexes hydrocarbonés (4 %) et d'acides organiques (3 %). Il s'agit notamment de l'acide acotinique, de l'acide citrique et de l'acide malique. La mélasse de canne est plus riche en phosphore et en calcium que la mélasse de betterave. [23]

La mélasse présente certaines propriétés nutritionnelles qui en font une source d'énergie importante. La norme moyenne pour 100 grammes de mélasse est la suivante (tableau):

**Tableau.2.** Les critères moyennes pour 100g de mélasse d'après (MARKAL, 2014). [28]

<b>Caractéristiques physiques et nutritionnelles</b>	<b>Les critères moyens pour 100 g de mélasse</b>
Energie	1212KJ/290Kcal
Matières grasses	0.1g
Acides gras saturés	0g
Glucides	74.7g
Sucres	55.5g
Fibres alimentaires	0g
Protéines	0g
Sel	0.09g
Calcium	205mg
Magnésium	242mg
Fer	4.72mg
Ph	5.5

Les mélasses contiennent des ensembles de vitamines B fortement actives. Par conséquent, les teneurs vitaminiques des mélasses finales dépendent étroitement des processus d'extraction de sucre.

**Tableau.3.** teneur moyenne de mélasse en vitamines. [22]

<b>Vitamines (mg/kg)</b>	<b>Mélasse de canne</b>	<b>Mélasse de betterave</b>
Biotine (B8)	0.36	0.46
Choline (B7)	745.0	716
Acide pantothéniques (B5)	21	05
Riboflavine (B2)	1.8	1.4
Thiamine (B1)	0.9	ND
Inositol	06	ND
Niacine (B3)	800	ND
Pyridoxine (B6)	05	ND

**II.5. Caractéristiques physico-chimiques de la mélasse :****II.5.1. La densité :**

La densité réelle de la mélasse est de l'ordre de 1,4 à 1,5, densité supérieure à celle de l'eau. [29]

**II.5.2. La viscosité :**

La viscosité de la mélasse augmente rapidement lorsque sa température diminue. La viscosité augmente aussi avec le Brix et aussi avec la proportion d'air emprisonnée sous forme des fines bulles dans la mélasse. [23, 29].

**II.5.3. La teneur en air :**

La mélasse contient des bulles d'air, le volume d'air est d'ordre de 15% de volume de la mélasse et est plus élevé que la mélasse manipulée et aussi que la mélasse visqueuse. [29], [30].

**II.5.4. La pureté :**

La pureté de la mélasse est le rapport exprimé en pourcentage (%) entre le taux de sucre et la matière sèche (Brix). [25]

**II.5.5. Le Brix :**

Le Brix est la concentration en matières sèches dissoutes (saccharose, réducteurs, acides, sels, etc.). En conséquence, un indice Brix pour la mélasse différera souvent nettement du sucre réel ou du contenu de solide total. La mesure du Brix d'une solution sucrée, exprimée en °Brix, est obtenue par une lecture de l'indice de réfraction de la solution. [31, 32, 22].

**II.6. Valorisation de la mélasse :**

L'intérêt de la mélasse réside dans sa teneur en sucre résiduel et sa valeur énergétique; elle est utilisée en alimentation animale, pour la production d'alcool, ou comme substrat nutritif pour la production de levures de boulangerie, d'acides aminés ou de protéines et d'acides organiques. [33, 34].

**II.6.1. Alimentation humaine :**

Une petite fraction de la mélasse se retrouve sur les tablettes des super marchés pour la consommation humaine. [35]

**II.6.2. Alimentation animale :**

Les utilisations principales de la mélasse avec des moutons, comme un constituant de ration d'entretien d'hiver qui améliorera l'état des brebis et des agneaux et aussi la qualité des laines [36]

**II.6.3. Production d'acide lactique :**

Les bactéries lactiques exigent des aliments complexes, comme la mélasse, dont elles fermentent les sucres en acide lactique. La souche utilisée est homofermentaire:

*Lactobacillus delbrukii* avec un rendement de 90% de sucre utilisé. [37]

**II.6.4. Production d'alcool éthylique:**

L'éthanol est un liquide inflammable, insipide, sans couleur et légèrement toxique. L'éthanol est généralement obtenu par conversion microbiologique des fermentations de la mélasse. [38]

**II.6.5. Production de vinasse :**

Après fermentation, la mélasse de betterave donne naissance à un autre coproduit qui est la vinasse de mélasse. Les vinasses sont des résidus de la distillation de la mélasse lors de la fabrication d'alcool. Elles ont longtemps été considérées comme des déchets polluants à éliminer. Cependant, elles sont valorisables en agriculture surtout sous forme concentré. [33]

**II.6.6. Production de vitamines :**

La vitamine cyanocobalamine B<sub>12</sub> et la  $\beta$ -carotène (précurseur de la vitamine A) sont produites par fermentation à partir de la mélasse avec un rendement de 0,45% et 1% respectivement [39]

**II.6.7. Production de lysine et d'acide glutamique :**

La mélasse de canne à sucre est substrat de culture qui a permis d'obtenir des acides aminés essentiels parmi eux la lysine par les *Corynebacterium* (J.O.G.D.L, 1989). [40] L'acide glutamique est un acide aminé très employé en industrie agro-alimentaire et en pharmacie. Sa production se fait industriellement par fermentation sur **mélasse** de canne ou de betterave, substituée de glucose, pour son rendement le plus élevé. Les microorganismes utilisés appartiennent au genre *Corynebacterium*: ***Corynebacterium glutamicum***. [39]

**II.6.8. Production de levure de boulangerie :**

La levure de boulangerie, *Saccharomyces Cerevisia*, est multipliée en levurerie dans des cuves contenant de la mélasse de sucrerie, des éléments azotés et des minéraux, en milieu

fortement oxygéné. [41], les levures utilisent les sucres de la mélasse comme source principale de carbone et par conséquent d'énergie. [42]

## **II.7. Étapes du raffinage du sucre et production de la mélasse process de CEVITAL :**

### **II.7.1. Affinage :**

C'est une opération qui consiste à un malaxage de sucre roux avec un sirop chaud légèrement sous saturé donnant un produit appelé magma d'affinage d'un degré Brix variant de 80% à 85%. [43]

Cette opération constitue « l'empattage ». Ceci va permettre à la couche superficielle des cristaux (la plus impure), de se dissoudre. [44]

### **II.7.2. Refonte :**

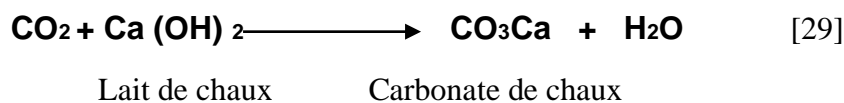
Le sucre affiné passe dans des turbines d'affinage pour être débarrassé des impuretés et matières colorantes sur la surface des cristaux, puis fondu dans un fondoir avec de l'eau sucrée et chaude à 85°C pour atteindre un degré Brix de 70%, formant « un sirop de refonte » [45]

### **II.7.3. Carbonatation :**

La carbonatation a été proposée en sucrerie de betteraves par Perier et Possoz, ils signalent que si l'on provoque dans un jus un précipité de carbonate de chaux, ce dernier va enrober les matières colorantes et les gommages. [29]

La réaction est alcaline, et fournit ainsi un complément de clarification notable.

Le précipité formé est granuleux et filtre aisément, comme le montre la réaction suivante:



La chaux, sous l'action de gaz carbonique, se transforme en carbonate de calcium et piège les impuretés responsables de la couleur. [43]

#### **II.7.3.1. Préparation du lait de chaux:**

Le lait de chaux se compose d'une combinaison de chaux industrielle et de petit jus issu de la filtration. Le petit jus est utilisé parce que la chaux se dissout plus aisément dans une eau sucrée pour accroître sa solubilité et réduire la quantité d'eau dans le procès.

La chaux est mélangée modérément avec le petit jus, le mélange est homogénéisé afin d'éviter la décantation de la chaux. [45]

Le sirop obtenu est mélangé au lait de chaux dans des réacteurs de Carbonatation. [43] A ce niveau on parle de «jus chaulé «

#### **II.7.3.2. Procès de la carbonatation:**

Le sirop chaulé est envoyé vers la première chaudière pour subir « la première carbonatation ». Le gaz carbonique est pompé avec un débit régulé par une vanne jusqu'à avoir un pH=11, le produit est renvoyé dans la deuxième chaudière pour subir « la deuxième carbonatation ». Le sirop carbonaté sort avec un pH d'environ 8 et à une température de 90°C vers latroisième section. [45]

#### **II.7.4. Filtration :**

L'objectif de la filtration est d'éliminer le carbonate de calcium en suspension du sirop carbonaté et de récupérer le petit jus. Le sirop carbonaté passe à travers des filtres à bougie, le liquide sort du support filtrant tandis que les particules sont arrêtées. Le sirop est envoyé vers un bac tampon muni d'agitateurs pour éviter toute décantation puis envoyé vers un autre bac tampon pour subir la décoloration. [45]

Une fois le filtre vidangé, la boue résultante contenant du sucre résiduel passés dans le filtre à presseet qui subira un déssucrage. Le gâteau obtenu est lavé avec de l'eau chaude et on obtient de l'eau sucrée qu'on appelle « petit jus » et les boues finales constituant un gâteau solide, appelé « écumes » utilisées comme amendement en agriculture

#### **II.7.5. Décoloration :**

Le premier objectif du raffinage du sucre est l'élimination des colorants présent en faible concentration, et ce afin de produire un sucre de bonne couleur et présentant une bonne homogénéité cristallographique. [46]

Dans l'industrie sucrière, les résines échangeuse d'ions (chlorures) sont largement utilisées pour décolorer les sirops de sucre de canne. [47]

#### **II.7.6. Concentration :**

Avant la cristallisation, le sirop est concentré dans un évaporateur, et les vapeurs issues de ce dernier sont récupérées pour les besoins de chauffage durant le procès. Le jus est ramené à une température d'ébullition afin d'éliminer l'eau, entraînant ainsi sa concentration sous forme d'un sirop entre 60 et 70 % de saccharose.

Le sirop initialement à environ 58 % de brix se retrouve à la sortie du concentrateur à un brix de 72%. A la fin de l'évaporation, le sirop de sucre se caractérise par un taux de pureté de 93%. [44]

### **II.7.7. Cristallisation :**

La cristallisation du sucre est une opération qui permet d'extraire le saccharose en solution dans le jus concentré. Le rendement en sucre est déterminé par la pureté de la mélasse obtenue. La cristallisation permet l'élimination de 99,5 à 99,7 % des non-sucre, elle est effectuée en 3 étapes appelées jets, chaque jet comprend est constitué de 3 étapes: cuisson, malaxage et essorage ou turbinage. [48]

#### **II.7.7.1. Cuisson :**

Elle est effectuée dans des appareils à cuire appelés cuites. Le sirop liqueur standard provenant de la section de concentration alimente chaque cuite, conduisant à la formation des cristaux en suspension et le sirop est nommée masse-cuite dont le liquide entourant les cristaux appelé eau mère puisqu'il nourrit le cristal. [49]

#### **II.7.7.2. Malaxage :**

Le malaxage permet d'épuiser au maximum l'eau mère au moyen d'un procédé de cristallisation par refroidissement, il consiste à développer les cristaux en abaissant la température dans le but de diminuer la solubilité. Il s'effectue dans des malaxeurs munis d'agitateurs et équipés d'un système à circulation d'eau pour régler la température. [49]

#### **II.7.7.3. Turbinage (déshydratation):**

Après le mélange, la masse cuite passe dans une turbine pour séparer les cristaux de sucre de l'eau mère. La masse cuite est ensuite déshydratée par la force centrifuge de la turbine.

Les cristaux de sucre restent dans le tamis et la liqueur mère est rejetée, appelée "eaux usées pauvres". La surface des cristaux est lavée par un jet d'eau (créassage). [29]

Le sirop lavé est appelé "eaux usées riches" car il est plus pur que les eaux usées précédentes. Le dernier jet est un jet de décompression, où le sucre obtenu est coloré, recyclé et l'eau mère, qui correspond à la mélasse avec toutes les impuretés concentrées, est récupérée. Les cristaux de sucre (dernière injection) sont enveloppés d'une pellicule de mélasse, qui est éliminée par raffinage. La pureté de la mélasse détermine le rendement de cristallisation. Les non-sucre du sirop sont contenus dans la mélasse. [29]

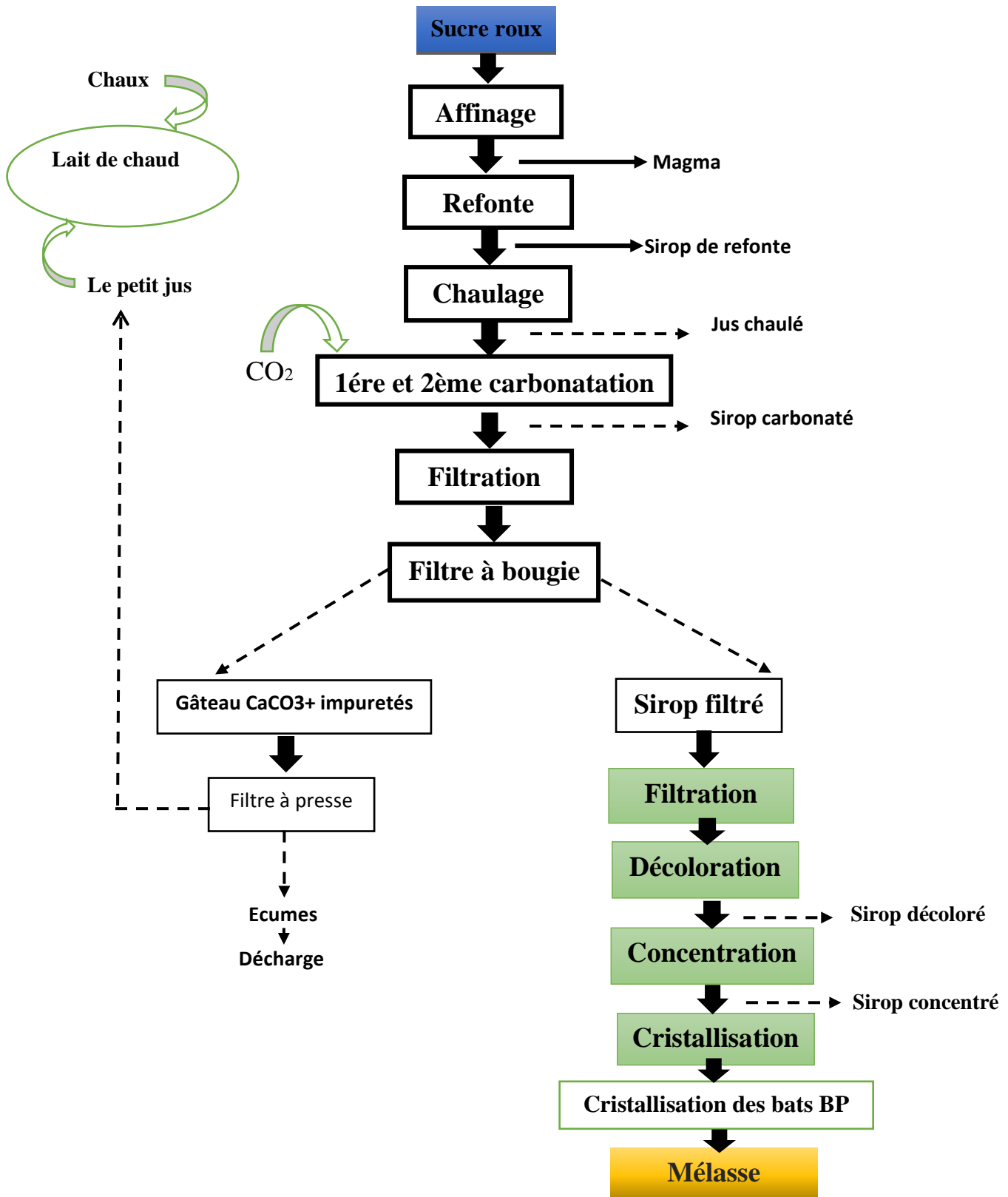


Figure .1. Organigramme illustrant les étapes de fabrication de la mélasse du CEVITAL

**CHAPITRE III**  
**L'ACIDE**  
**LACTIQUE**

### III.1. Généralités :

L'acide 2-hydroxypropanoïque ou acide lactique est le principal ingrédient de tous les produits laitiers acidifiés et leur confère leurs caractéristiques de base. L'acide lactique est une substance naturellement non toxique. L'acide lactique a été découvert il y a environ 200 ans et sa présence a été reconnue à l'époque dans le lait acidulé et dans les composés obtenus par extraction à l'eau de tissus musculaires. Ce n'est que plus tard, cependant, qu'il a été reconnu que les acides obtenus à partir de ces deux sources étaient chimiquement indiscernables mais fournissaient des sels avec des formes cristallines et d'autres propriétés physiques différentes.

[50]

Dans la plupart des cas, l'acide lactique est obtenu par des processus naturels. Il existe également des méthodes synthétiques d'obtention de l'acide lactique, telles que la décomposition des sucres et l'oxydation du propylène glycol. La principale méthode commerciale de production d'acide lactique est basée sur la fermentation des hydrates de carbone. Les matières premières utilisées dépendent des conditions spécifiques de la plante, mais dans tous les cas, il est avantageux d'obtenir un produit aussi pur que possible, d'où l'utilisation de la mélasse, qui présente d'énormes avantages économiques. [50]

L'acide lactique est une substance chimique composée de trois atomes de carbone : un atome de carbone terminal avec un groupe carboxyle, un autre atome de carbone terminal avec un groupe hydrocarboné ou méthyle, et un atome de carbone central avec un groupe d'alcool. [51]

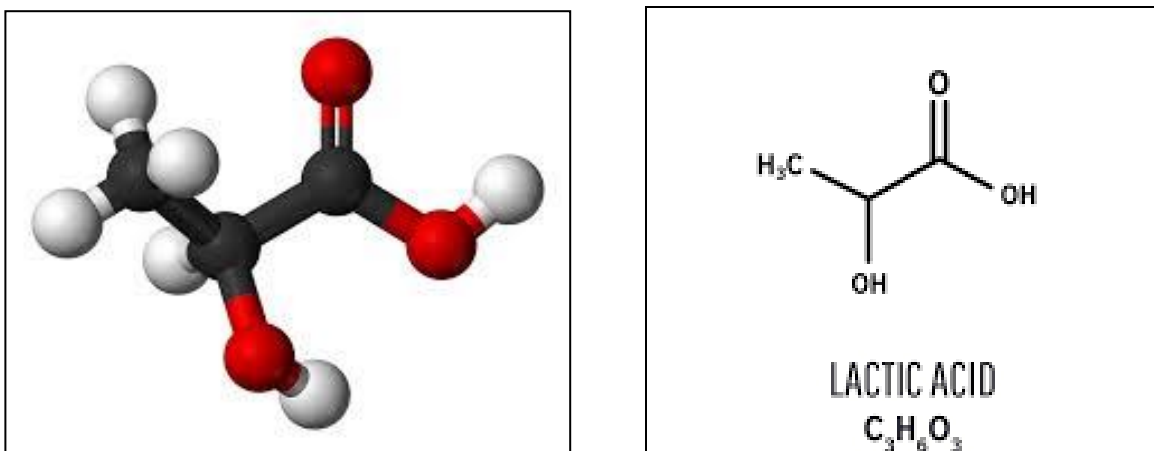
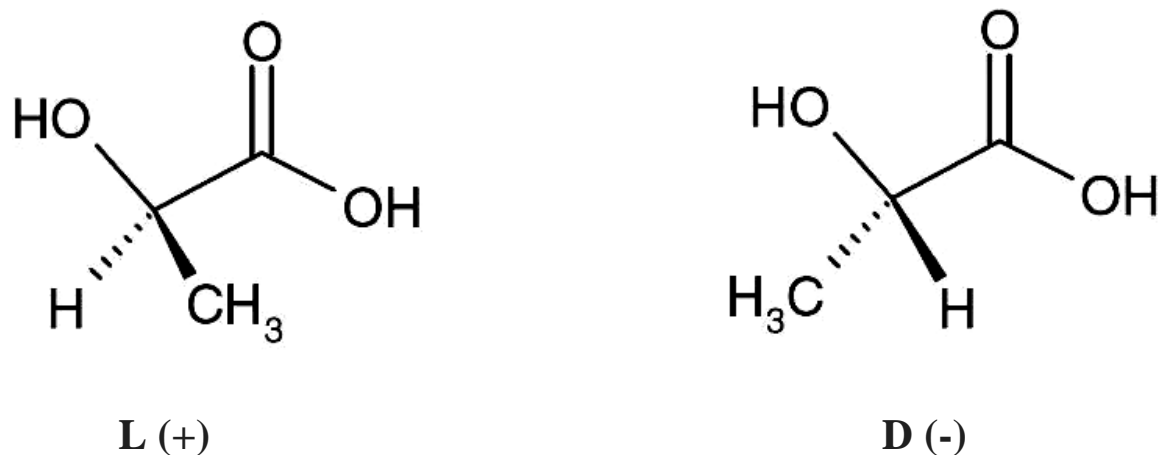


Figure.2. La formule structurale de l'acide lactique.

### III.2. Propriétés physicochimiques de l'acide lactique:

Les deux isomères optiquement actifs de l'acide lactique sont les formes L (+) et D (-). [50]



**Figure.3.** Les deux isomères optiquement actifs de l'acide lactique.

La présence de l'acide lactique dans l'eau est incolore et très peu volatile. Une auto-estérification peut survenir en solution à 20% ou plus en raison de la présence des groupements hydroxyle et carboxyle dans la molécule d'acide lactique. Le lactate crée un dimère cyclique connu sous le nom de lactide, ainsi que des polymères linéaires de forme générale  $H[OCH(CH_3)CO]_nOH$ . Pour évaluer le rôle physiologique et la physiologie de la nutrition de l'acide lactique dans l'organisme, il est essentiel de faire une distinction entre les formes L (+) et D (-) de cette substance. On considère généralement que la forme L (+) est métabolisée plus rapidement que la forme D (-). De plus, on attribue fréquemment aux qualités nutritionnelles supérieures de l'acide L (+). [52]

L'acide lactique se présente sous forme d'un liquide jaune clair ou incolore, sirupeux, visqueux et inodore, qui se mélange facilement avec de l'eau, de l'éthanol et de l'éther. On l'emploie pour préparer des solutions. Il est nécessaire de le conserver dans un récipient fermement fermé. [53]

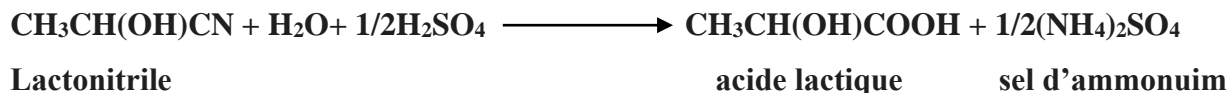
Tableau.4. les propriétés physico- chimique de l'acide lactique.

Les propriétés	Les unités	Les valeurs
Poids moléculaire	Mol	90,08
Point de fusion	C°	52.8(D) -53.0(L) D et L 16.8(DL) racémique
Température de fusion	K j/mol	16.86(L) – 11.33 (DL)
Capacité thermique	J /mol.c° dans 20C°	190 (DL)
Point de l'ébullition	C ° (à 1.87kPa)	103 (L et D ) 122 (DL) racémique
Densité solide	g. mol-1 20c°	1.33
Densité liquide	g. mol-1 20c°	1.057
Aspect physique	/	Solution aqueuse

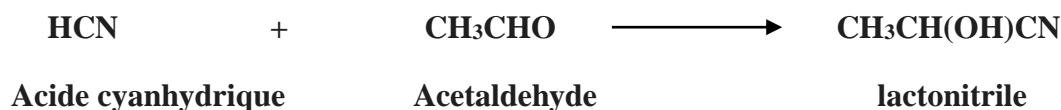
### III.3. Production d'acide lactique:

#### III.3.1. La voie chimique:

La principale méthode de préparation synthétique est l'hydrolyse du lactonitrile par l'acide chlorhydrique ou l'acide sulfurique.



Le lactonitrile est obtenu par la réaction entre l'acétaldéhyde et l'acide cyanhydrique.



L'avantage de la production d'acide lactique par des méthodes chimiques est que des sous-produits de l'industrie chimique peuvent être utilisés, mais surtout, il est possible de produire de l'acide lactique de haute pureté, incolore et résistant à la chaleur. [51]

#### III.3.2. La voie enzymatique:

Deux types d'enzymes sont obtenus par fermentation de Pseudomonas:

La L et la DL-2-halo acide dehalogenase.[54] Elles catalysent la déhalogénéation de l'acide 2-halo-propionique comme l'acide 2-chloropropionique, avec inversion de la configuration C2. [55] Les réactions catalysées par ces enzymes sont les suivantes:



L-2-halo acide déhalogénase



DL- 2-halo acide déhalogénase

La L-2- halo acide déhalogénase agit sur l'isomère L de l'acide chloropropionique.

Alors que la DL-2-halo acide déhalogénase catalyse la déhalogénéation des deux énantiomères de l'acide chloropropionique.

### III.3.3. Voies biotechnologiques (fermentation):

Ces dernières années montrent un tournant décisif dans la production d'acide lactique au niveau mondial. L'acide lactique est presque exclusivement produit par fermentation. Les micro-organismes généralement utilisés pour sa production sont variés, mais ce sont les lactobacilles qui sont les plus fréquemment utilisés. Ils peuvent croître à température élevée (40°C) et à faible pH (5 à 7) ce qui limite alors les contaminations. [56] La mise en œuvre de ces micro-organismes en fermenteur est souvent en mode discontinu ou continu.

#### III.3.3.1 Micro-organismes utilisés:

Un grand nombre de genres et d'espèces bactériennes et même certaines moisissures convertissent les glucides en acide lactique.

- **Les bactéries lactiques:**

Depuis la fin du siècle dernier, des progrès significatifs ont été réalisés tant dans la compréhension des micro-organismes responsables de la fermentation lactique que dans le développement de méthodes de sélection de souches basées sur des critères d'activité et de résistance. Le rôle important des lactobacilles réside dans leur capacité à fermenter rapidement le sucre en acide lactique.

Les bactéries lactiques homofermentaires, notamment *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Lactobacillus*, convertissent le glucose en acide lactique de manière presque quantitative (90 à 95 %). Le rôle principal des bactéries lactiques est de produire de l'acide lactique et d'autres composés organiques par fermentation du sucre, et ces produits affectent la texture, le goût et la qualité microbienne des aliments. [56] Les lactobacilles sont les micro-organismes les plus couramment utilisés pour produire de l'acide lactique. (**Tableau.5**).

- **Les champignons:**

Un nombre limité d'autres micro-organismes sont capables de produire de l'acide lactique. Il s'agit notamment de certaines moisissures (**Tableau.5**). L'utilisation de champignons tels que *Rhizopus oryzae* est intéressante car la production d'acide lactique ne nécessite pas de source d'azote organique, utilise des hydrates de carbone tels que les hexoses et les pentoses et peut être facilement isolée du milieu au cours du processus de purification. [57] Ces micro-organismes occupent une place importante sur le marché des enzymes. Ce sont presque exclusivement des hydrolases, et leurs principaux producteurs appartiennent aux zygomycètes; *Rhizopus spp.* et *R. oryzae* ont tous deux des enzymes amylolytiques qui convertissent l'amidon en acide lactique L(+).

**Tableau.5.** Souches sélectionnées pour la production d'acide lactique et leurs performances.

Micro-organisme	Lactate (g/l)	Productivité (g /l.h)
<i>Rhizopus oryzae</i>	83,0	2,6
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	67,0	2,5
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	90,0	3,8
<i>Lactobacillus plantarum</i>	41,0	1,0
<i>Lactococcus lactis ssp. Lactis</i>	90,0	1,6

- **Les levures:**

*Saccharomyces cerevisiae* est l'un des microorganismes les plus utilisés pour la production d'acide lactique, en raison de sa tolérance élevée à des valeurs bas de pH. Elle peut être développée en condition aérobie sur différents substrats en produisant efficacement de l'acide lactique. [58]

*Candida sonorensis* et *Candida boidinii* sont des levures méthylotrophe qui peuvent fermenter l'hexose (glucose) pour produire l'acide lactique. Elles tolèrent les milieux acides, et nécessitent un milieu de croissance simple. [58]

### III.3.3.2 Milieux de culture:

L'objectif principal dans le domaine industriel est de développer des procédés performants et novateurs pour la production d'acide lactique. Fréquemment, afin de rendre ces productions

économiques et rentables, il est possible de les réaliser à partir de matières premières brutes non traitées. Plusieurs méthodes ont été testées et la matière première a été variée. L'intérêt économique des matières amylacées et cellulosiques est considérable. Ils sont nombreux et moins coûteux. [59]

Différents matériaux amylacés ont été employés. La production industrielle et abordable d'enzymes spécifiques comme les amylases et les amyloglycosidases facilite l'hydrolyse de l'amidon de ces substrats. Parmi ces substrats, il est possible de mentionner:

**Tableau.6.** Matières premières de faible coût utilisées pour la production d'acide lactique.

<b>Matières premières</b>	<b>Micro-organismes</b>
<b>Hemicellulose</b>	<b>Bacillus sp.</b>
<b>Mélasses</b>	<b>Lactobacillus delbrukeii</b> <b>Enterococcus faecalis</b>
<b>Seigle</b>	<b>Lactobacillus paracasei</b>
<b>Sorgho</b>	<b>Lacobacillus paracasei</b>
<b>Blé</b>	<b>Enterococcus faecalis</b>
<b>Maïs</b>	<b>Enterococcus faecalis</b>
<b>Manioc</b>	<b>Lactobacillus casei</b>
<b>Pomme de terre</b>	<b>Lactobacillus amylovorus</b>
<b>Riz</b>	<b>Lactobacillus sp.</b>
<b>Orge</b>	<b>Lactobacillus amylophilus</b>
<b>Cellulose</b>	<b>Lactobacillus coryniformis ssp</b>
<b>Corncob</b>	<b>Rhizopus sp.</b>
<b>Déchet de papier</b>	<b>Lactobacillus coryniformis ssp</b> <b>torquens et Rhizopus oryzae</b> <b>Lactobacillus delbrukeii</b>
<b>Bois</b>	<b>Lactobacillus delbrukeii</b> <b>Enterococcus faecalis</b>

III.4. Applications de l'acide lactique:

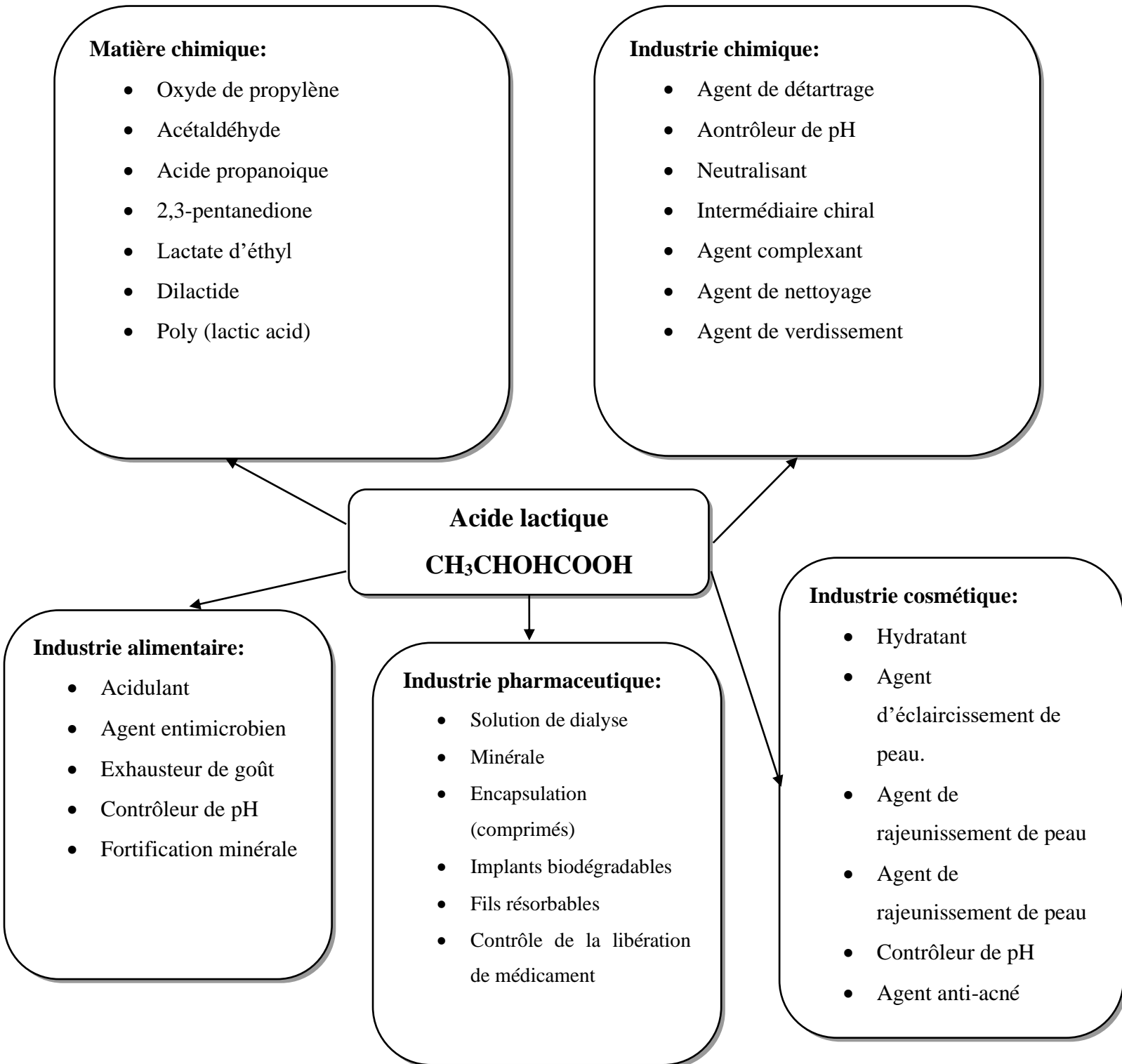


Figure.4. Les applications de l'acide lactique

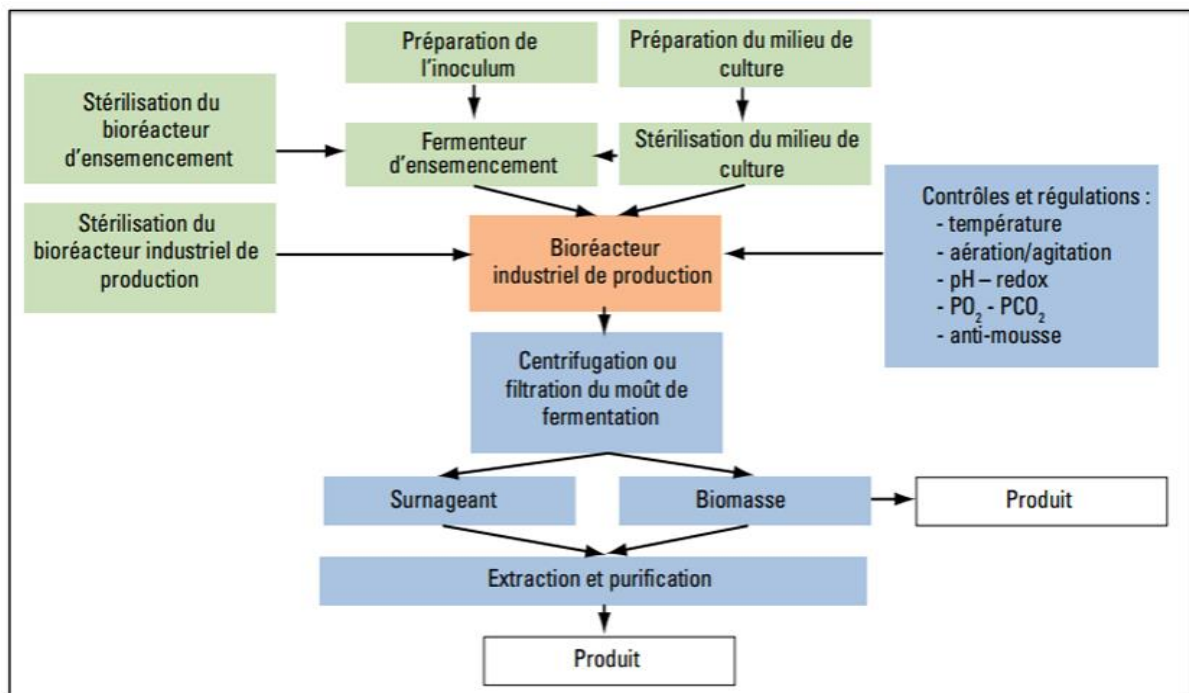
D'après **La figure.4**, il est évident que l'acide lactique se manifeste dans tous les secteurs, contribuant à la production de produits alimentaires délicieux et sains, de cosmétiques performants et respectueux de la peau, de médicaments efficaces et de solutions durables pour l'environnement. L'acide lactique est un véritable atout pour l'industrie chimique en raison de ses multiples fonctions. Grâce à sa capacité à se dégrader et à son origine naturelle, il s'agit d'une décision écoresponsable qui répond aux défis environnementaux actuels.

### III.5. Fermentation lactique:

#### III.5.1. La fermentation:

En termes de biochimie alimentaire, un produit fermenté est un produit solide ou liquide qui a subi une réaction biologique appelée fermentation par des micro-organismes tels que des bactéries et/ou des champignons microscopiques. Les aliments fermentés peuvent être définis comme des aliments ou des boissons obtenus par croissance contrôlée de micro-organismes avec transformation enzymatique des composants alimentaires [60]

Le processus de fermentation convertit les glucides en acides, gaz ou alcools avec l'extraction d'une partie de l'énergie chimique et la réoxydation des coenzymes épuisés au cours de ces réactions. [60]



**Figure.5.** Les étapes de la fermentation.

### III.5.2. Procédés de fermentation:

#### III.5.2.1. Réacteurs discontinus

Dans de nombreuses industries, on utilise principalement un procédé discontinu. Ce procédé de fermentation est très développé dans le secteur industriel. Il est utilisé pour étudier les conditions de culture des souches et l'efficacité de la fermentation de l'acide lactique en testant différents substrats purifiés ou non. Le micro-organisme est extrêmement adaptable à la température et au pH. Les souches contiennent tous les nutriments essentiels et présentent une aptitude accrue à la croissance et à la production dans un environnement physico-chimique favorable. Les avantages du système discontinu sont principalement liés aux rendements obtenus en présence d'une importante source d'azote.

Plusieurs études ont été réalisées pour étudier l'effet des sources d'azote sur l'amélioration de la production d'acide lactique. [61]

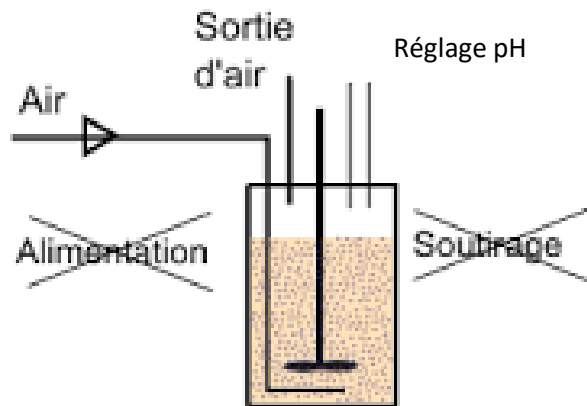


Figure.6. Bioréacteur discontinu batch

#### III.5.2.2. Réacteurs continus :

D'un point de vue économique, la productivité des fermentations en mode discontinu n'est pas optimale. Par conséquent, de nombreuses études ont porté leur attention sur le mode continu afin d'améliorer ce facteur économique. Effectivement, il est très avantageux de pouvoir modifier et contrôler la vitesse de croissance spécifique en modifiant le régime d'addition du substrat limitant par rapport aux cultures discontinues. Le taux de dilution n'a pas d'impact sur les fractions de lactate L(+) et D(-) produites par *Lactobacillus casei* subsp. *casei* et *Lactobacillus coriniformis* subsp. *torquens*, comme le démontrent. [62]

Liew et al. (2006) ont obtenu une concentration et une productivité maximum en acide lacun taux de dilution de  $0,35 \text{ h}^{-1}$ . Il existe aussi des systèmes de culture continue à deux ou plusieurs réacteurs, ce qui permet une plus grande flexibilité pour l'optimisation. Le système multiétagé permet de séparer la croissance cellulaire de la production. [63]

Le fonctionnement de ce système implique de favoriser la croissance dans le premier réacteur, puis de produire dans les autres réacteurs en utilisant les cellules recueillies dans le premier réacteur. Les performances constatées fluctuent donc entre 2 et 6 g/l.h. [63]

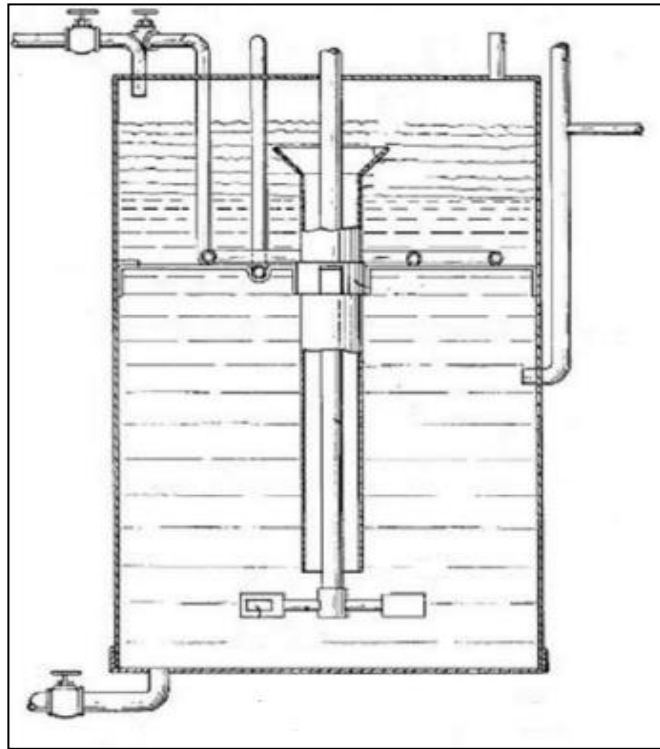


Figure.7. Un fermenteur de type continu

#### III.5.2.2.1. Réacteur continu avec recyclage cellulaire:

Une méthode alternative utilise des systèmes à haute densité cellulaire. La biomasse cellulaire (et par conséquent les métabolites) du milieu de fermentation est séparée pour obtenir ces conditions de haute densité cellulaire. Les techniques employées impliquent le recyclage de la biomasse en plus de la filtration sur membrane. Ces bioréacteurs à membranesont une grande efficacité. En effet, ils augmentent la productivité. Cependant, ils ont un inconvénient important: la fragilité des membranes et les problèmes de colmatage. [64]

**Kim et al. (2006)** ont utilisé *Lactobacillus* sp. dans un procédé batch en série avec recyclage cellulaire, et ont obtenu une productivité maximale de 6,4 g/l.h. **Oh et al. (2003)** ont obtenu une productivité de 6,2 g/l.h en utilisant *Enterococcus faecalis*, **Wee et al. (2006b)**, quant à eux, ont atteint une productivité de 4 g/l.h avec la même souche. **Know et al. (2001)** ont obtenu une productivité de 57 g/l.h avec *Lactobacillus rhamnosus* (culture continue biétagé à recyclage). **You et al. (1997)** obtiennent 12 g/l.h avec *Lactobacillus casei* subsp. *casei*.

#### III.5.2.2 Cellules immobilisées dans les réacteurs continus:

L'immobilisation, ou plus précisément la rétention des cellules dans une phase insoluble, présente un certain nombre d'avantages potentiels. Le premier d'entre eux est la possibilité d'obtenir des densités cellulaires élevées; **Bergmeier et al. (2003)**. ont rapporté des concentrations élevées de cellules de *Lactobacillus rhamnosus* (8,5. 10<sup>11</sup> CFU/ml de support) immobilisées sur des supports poreux en caoutchouc de silicone pour la production d'exopolysaccharides. Les applications potentielles des lactobacilles immobilisés sont en pleine expansion. De nombreuses études ont été réalisées en utilisant différents supports. Les plus utilisés sont l'alginate de calcium (**Guoqiang, D, et al 1991**) et l'alginate de sodium. [65] (**Yun, J.S, et al 2004**) (**Senthuran et al 1999**) ont étudié l'encapsulation de cellules de *Lactobacillus casei* par polymérisation de polyéthylèneimine. Ce système est combiné avec le recyclage des cellules. Les principaux avantages de ce procédé sont dus à la taille relativement petite de la capsule et à la fine membrane qui facilite le mouvement du matériau. [66]

#### III.5.2.3. Réacteurs semi continus (Fed-Batch):

Les cultures semi-continues sont effectuées dans le but d'optimiser les résultats de la fermentation lactique. Effectivement, cette méthode de culture permet habituellement d'atteindre des concentrations cellulaires élevées et, si l'on peut influencer une ou plusieurs concentrations de substrat dans le milieu de culture, cela peut améliorer la productivité volumétrique du produit. Il y a eu peu de recherches sur la production d'acide lactique dans ces conditions. [67]

Notez que **Roukas et Kotzekidou (1998)** ont utilisé une culture mixte de cellules libres et co-immobilisées de *Lactobacillus casei* et *Lactococcus lactis*. Les performances de fermentation ont été améliorées dans les deux cas grâce au processus semi-continu. La productivité volumétrique et la concentration finale d'acide lactique ont doublé pour le semi-continu utilisant des cellules libres (1,91 g/l h, 46 g/l) par rapport au discontinu (0,93 g/l h, 22,5 g/l). **Bai et al.2003**, ont réalisée une hyperproduction d'acide lactique en utilisant *Lactobacillus lactis*. Un maximum d'acide lactique de 210 g/l est obtenu avec une productivité de 2,2 g/l.h. [67]

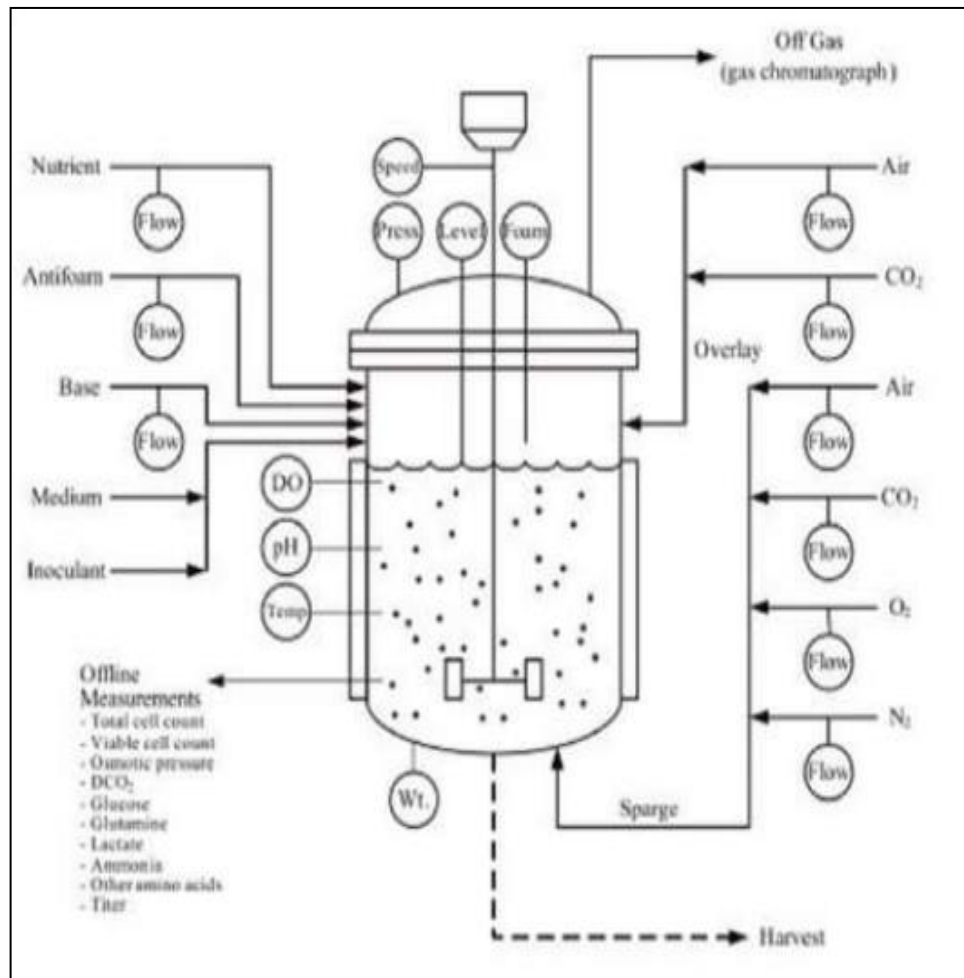


Figure.8. Bioréacteur de type Fed-Batch

Tableau.7. Performances des fermentations lactiques selon le mode de culture.

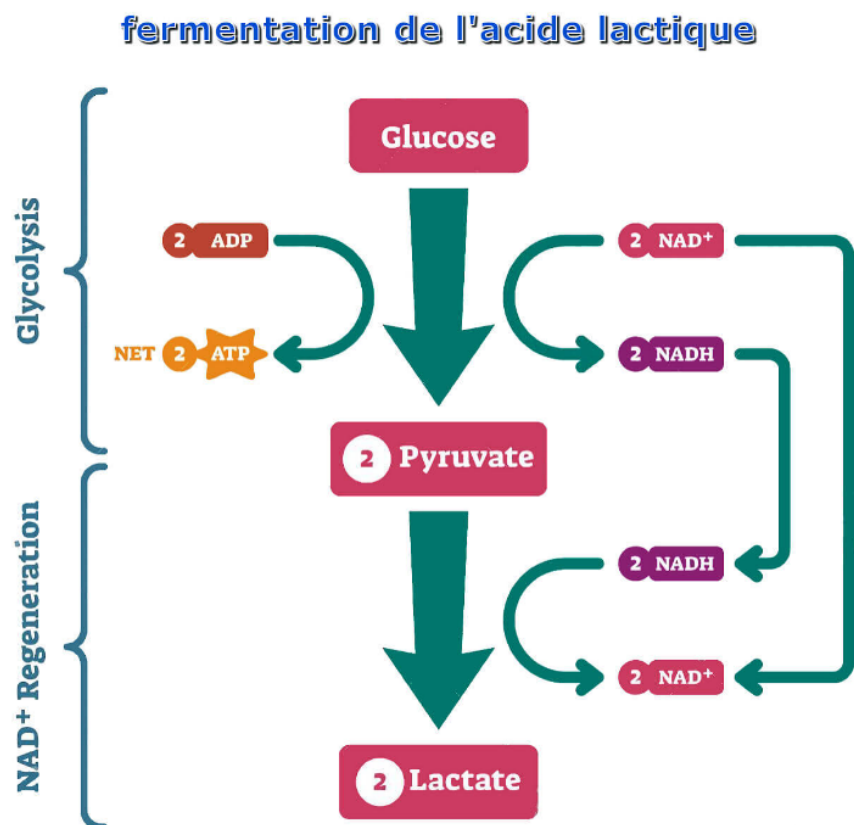
Mode de culture	Micro-organisme	Source carbonée	Lactate(g/l)	Productivité
<b>Discontinu</b>	-Lactobacillus-rhamnosus	Glucose	125	2.2
		Lactose	95.7	4.0
	-Enterococcusfaecalis	Saccharose	57	1.2
	-Bacilluscoagulans	Lactose	103	2.2
	-Lactobacilluscasei			
<b>Discontinu à cellules immobilisées</b>	-Lactobacilluscasei	Lactose	125.6	3.45
<b>Semi-continu</b>	-Lactobacilluscasei	Lactose	47	2
	-Lactobacilluslactis	Glucose	210	2.2
<b>Continu</b>	-Lactobacillus-rhamnosus	Glucose	45	15.7
	-Lactobacillus-delbrukeii	Glucose	25	9
<b>Continu biétage</b>	-Lactobacillus-bulgaricus	Lactose	38	5.7
<b>Continu à cellules immobilisées</b>	-Lactobacillus spp.	Lactose	33	6
	-Lactobacilluscasei	Glucose	27	1.6
	-Lactobacilluscasei-ssp.rhamnosus	Glucose	22.4	9
<b>Continu avec recyclage cellulaire</b>	-Lactobacilluslactis	Glucose	30.1	33.1
	-Lactobacilluscasei-ssp.rhamnosus	Glucose	52	12
	-Lactobacillus-rhamnosus	Glucose	92	57

### III.5.3. L'évaporation de la lactique:

La fermentation lactique est une fermentation anaérobie qui se produit à partir de la glycolyse, qui génère un acide, de l'acide lactique, qui est utilisé pour réoxyder le NADH. Le glucose est décomposé par la fermentation en l'absence d'oxygène.

Le processus biologique de fermentation d'acide lactique consiste à transformer les sucres, comme le glucose, le fructose et le saccharose, en énergie cellulaire et en un sous-produit métabolique, le lactate. Il s'agit d'un ferment lactique qui agit.

Le processus de fermentation lactique consiste à convertir le pyruvate en éthanol ou en lactate



afin de reconstruire le  $\text{NAD}^+$  à partir du  $\text{NADH}$ . Le pyruvate est utilisé comme accepteur des électrons de haute énergie du  $\text{NADH}$  lors de la fermentation. Le  $\text{NAD}^+$  généré par la réduction du pyruvate par voie anaérobie est réutilisé dans la voie glycolytique pour ainsi produire davantage d'ATP. Chaque molécule de glucose peut produire une molécule d'ATP dans des conditions anaérobies. [68]

**III.5.3.1.Équation de la fermentation lactique :**

L'équation de fermentation de l'acide lactique est généralement décrite comme :



Toutefois, l'équation de la fermentation lactique doit être écrite plus clairement pour avoir du sens.

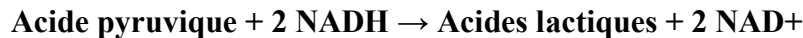
Dans la première étape, le glucose est converti en acides pyruviques par le processus de glycolyse. Dans la glycolyse, 2 ADP et 2 NAD<sup>+</sup> sont convertis en 2 ATP et 2 NADH.

Dans la deuxième étape, l'acide pyruvique est converti en acide lactique avec la conversion de 2 NADH en 2 NAD<sup>+</sup>. Dans cette étape, le NAD<sup>+</sup> est régénéré pour continuer le processus glycolytique. [68]

Par conséquent, l'équation complète de la fermentation lactique s'écrit sous la forme suivante :



Puis:

**III.5.3.2 Types de fermentation lactique:****III.5.3.2.1. Fermentation homolactique:**

L'acide lactique est le produit essentiel de ce type de fermentation (>90% des produits formés), contrairement à la fermentation hétérolactique (entre 25 et 90% d'acide lactique). Cependant, il y a parfois formation d'une petite quantité de glycérol et plus souvent d'acétoïne et de diacétyle (par exemple par l'intermédiaire de l'acétolactate). Par ailleurs, dans des conditions de pH basique, il y a formation de quantités croissantes de formate, d'acétate et d'éthanol. [69]

La fermentation lactique du lactose commence par la transformation du lactose en glucose par une enzyme lactase, ensuite la dégradation du glucose s'effectue par une voie connue sous le nom de glycolyse ou voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (**Figure III.9**). Dans ce processus, une molécule de glucose va donner, via plusieurs intermédiaires, deux molécules du produit final qui est l'acide pyruvique. [68]

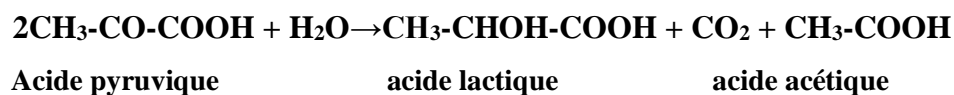
L'acide lactique provient de la réduction de l'acide pyruvique catalysée par la lacticodéshydrogénase (**Figure.10**). Il peut être de forme D (*Bacillus coagulans*, *Bacillus laevolacticus*...), L (*Lactobacillus delbrueckii*...) ou DL (*Bacillus racemilacticus*). Cette production dépend de la stéréospécificité de la lacticodéshydrogénase et de la présence ou de l'absence de racémase. Le micro-organisme peut ne posséder qu'une Lacticodéshydrogénase, D-lacticodéshydrogénase ou les deux. Certaines souches de lactobacilles produisent de l'acide racémique, bien qu'elles possèdent une lacticodéshydrogénase stéréospécifique; la racémisation s'effectue après la formation de l'acide lactique optiquement actif, avec intervention d'une racémase.

La fermentation homolactique est effectuée par tous les membres des genres bactériens *Streptococcus*, *Pediococcus* et *Microbacterium*, par beaucoup de *Lactobacillus*, par certains *Bacillus* et certaines moisissures. [69]

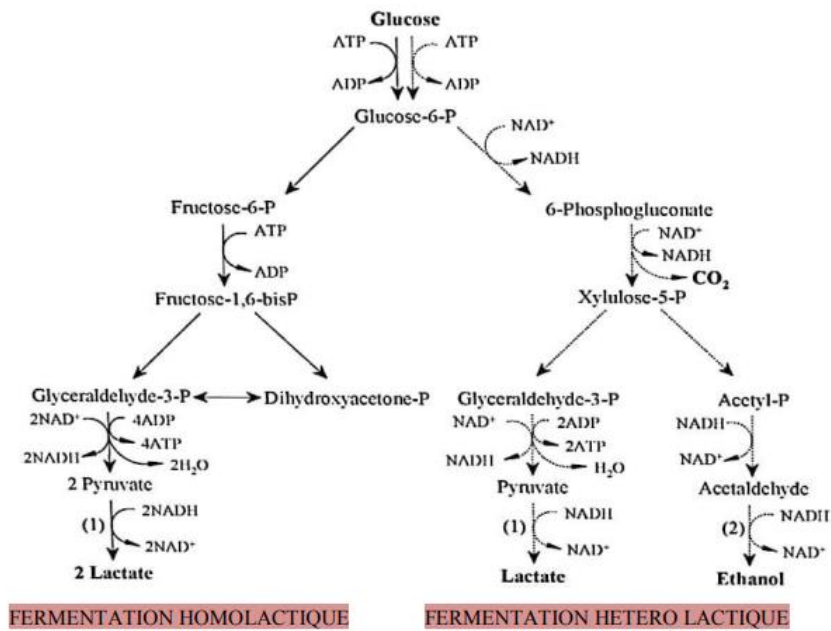
### III.5.3.2.2. La fermentation hétéro-lactique:

*Rhizopus oryzae* est un cas particulier parmi les moisissures. En culture aérobie, il produit de l'acide lactique, de l'acide acétique et du CO<sub>2</sub> et, en conditions anaérobies, un mélange d'acide lactique, d'éthanol et de CO<sub>2</sub>. Ces produits sont similaires à ceux produits par la fermentation hétéro-lactique de la bactérie *Leuconostoc*, mais le mécanisme de production est différent :

La dégradation du glucose s'effectue par la voie de glycolyse. En aérobiose, une partie du pyruvate est transformée en acide lactique, l'autre est oxydée. [70]



En anaérobiose, une partie du pyruvate est transformée en éthanol et CO<sub>2</sub>, l'autre en acide lactique. L'acide lactique formé dans les deux cas est de forme D (**Figure.10**).



**Figure.10.** La fermentation du glucose chez les bactéries lactiques:homolactique et hétérolactique. [70]

**CHAPITRE IV**  
**MATÉRIEL**  
**ET**  
**MÉTHODES**

**IV. Matériel et méthodes :****IV.1 Matériel****IV.1.1. Matériel biologique**

- **Les souches bactériennes**

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont des ferments lactiques de référence Bifidus (BifidoB OF 019) et lactobacillus (LactoB OF 001)

- **Les mélasses :**

Dans cette étude, la mélasse a été récupéré aux niveaux de la raffinerie du sucre de CEVITAL Agro-industriel (Bejaïa). Le prélèvement a été effectué le 28/04/2024 à 15 h.



**Figure.11.** Échantillon de mélasse.

**IV.1.2. Verrerie, appareils et produits chimiques :**

La verrerie, les appareils ainsi que les produits chimiques utilisés dans notre travail sont présentés dans annexe1.

**IV.2. Méthodes****IV.2.1. Préparation du milieu culture**

Le milieu de culture a été préparé à base de mélasse et une solution saline. Le mélange a été chauffé à l'aide d'une plaque chauffante agitatrice jusqu'à l'ébullition. Le pH a été ajusté à 7.0. Le milieu a été réparti dans des flacons pour une éventuelle stérilisation à l'aide d'un autoclave à une température de 121°C pendant 15 min.



**Figure.12.** Préparation du milieu culture.

#### **IV.2.2. La fermentation:**

##### **IV.2.2.1 Revivification:**

Ce processus permet de réactiver les souches utilisées avant de les utiliser dans des expériences ou des fermentations, assurant ainsi leur viabilité et leur efficacité.

- **Prélèvement des souches:** L'anse de platine stérilisée a été ensemencé pour prélever les souches lactiques.
- **Inoculation dans du bouillon de culture:** Les souches prélevées ont été transférées dans 9 ml de bouillon de culture pour favoriser la croissance des bactéries lactiques
- **Incubation:** Les échantillons sont incubés dans le bouillon de culture pendant 18 heures pour permettre la croissance des bactéries lactiques.
- **Réactivation dans une étuve:** Après l'incubation, les échantillons sont placés dans une étuve pour la réactivation des souches lactiques.

##### **IV.2.2.2. Pré culture:**

50 ml de milieu de culture à base de la mélasse ont été inoculées stérilement, puis incubées dans un bain-marie agité à 37°C **lactoB** et 44°C **bifidoB** respectivement



**Figure.13.** Préparation du pré culture

**IV.2.2.3. Culture:**

Après 24 heures d'incubation, 100 ml de milieu de culture ont été inoculées par les prés cultures, puis incubées dans un bain-marie avec une agitation permanente pendant 72 heures.



**Figure.14.** bain-marie avec une agitation permanente.

**IV.2.3. Titrage:**

Les aliquotes ont été récupérées qui en fait objet de titrage pour calcul de concentration

- **La formule de calcul**

Concentration molaire:

$$C_1V_1=C_2V_2 \longrightarrow C_2 = \frac{C_1V_1}{V_2}$$

**IV.2.4. Centrifugation:**

Après 72 heures, la fermentation a été arrêté, le mélange a été centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. Ensuite, nous avons récupéré le surnageants de culture.



**Figure.15.** Centrifugation (Sigma 6-16S).

#### IV.2.5. Extraction liquide-liquide

Le surnageant de culture a été récupéré et l'extraction volume-volume a été effectuée avec l'alcool iso amylique après agitation pendant 5 min puis laissé en repos entre 15 et 20 minutes après nous avons récupéré la phase organique.

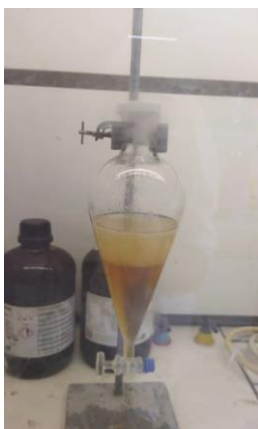
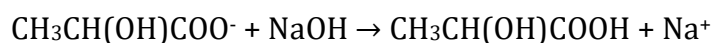


Figure.16. Extraction liquide-liquide

#### Neutralisation :

Les lactates sont récupérés par neutralisation, où l'ajustement du pH est effectué pour atteindre l'équilibre souhaité dans la solution.

La réaction chimique correcte entre les lactates et l'hydroxyde de sodium (NaOH) qui produit de l'acide lactique est :



#### IV.2.6. Distillation fractionnée :

Après l'extraction, une distillation fractionnée pour l'échantillon a été réalisée afin de séparer l'acide lactique et le solvant d'extraction (l'alcool isoamylique). la température a été stoppé à 129 °C pour récupérer l'acide lactique puis l'alcool isoamylique 135 °C. L'échantillon pur de l'acide lactique a été récupéré dans un flacon.

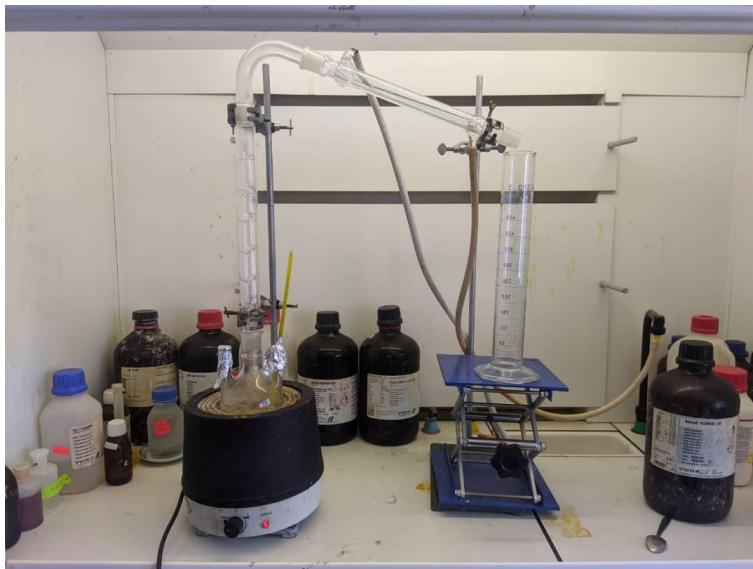


Figure.17. Distillation fractionnée.

- **Mesure de pH**

Le pH de l'échantillon pur d'acide lactique a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

- **Calcul de rendement**

Formule de rendement :

$$R\% = \frac{m_{\text{Extrait}}}{m_{\text{Totale}}} \times 100$$

**CHAPITRE IV**  
**RÉSULTATS**  
**ET**  
**DISCUSSIONS**

## V. Résultats et discussions :

### V.1. Résultats :

#### V.1.1. Résultat de fermentation :

Les résultats montrent qu'après 72 heures de fermentation, une turbidité notable a été observée dans le milieu de culture. Cette turbidité est indicative de la croissance bactérienne active et de la production d'acide lactique. Et un changement de couleur qui dû à l'acidification de milieu de culture



**Figure.18.** Après 72 heures de fermentation.

De plus, les mesures quantitatives réalisées avant et après la fermentation montrent que le pH du milieu de culture a diminué de 6,9 à 4,5, ce qui corrobore l'efficacité de la fermentation dans les conditions expérimentales choisies. Cette diminution du pH indique une production accrue d'acide lactique, confirmant que la mélasse utilisée est un substrat efficace pour la production d'acide lactique. De plus, dans le deuxième milieu de culture avec une souche de bifidus, il est notable que le pH n'a pas diminué de manière significative, passant de 6,9 à 5,6, cette observation indique que la fermentation n'a pas eu lieu correctement.

#### V.1.2. Titrage :

Après la fermentation du milieu de culture, un titrage a été réalisé. Le NaOH a été utilisé comme titrant et le bleu de bromothymol comme indicateur. Le changement de couleur observé a indiqué l'atteinte du point équivalent, permettant de déterminer la concentration d'acide lactique dans le milieu de culture.



Figure.19. le point d'équivalence

Le calcul de concentration a été réalisé selon la formule suivante :

- **Concentration molaire :**

La valeur calculée concerne uniquement la première souche.

1<sup>ère</sup> souche (Lactobacillus):

$$V_{eq} = 5\text{ml}, C_1 = 0,05\text{mol/L}, V_2 = 50\text{ml}$$

$$C_1 V_{eq} = C_2 V_2 \longrightarrow C_2 = \frac{C_1 V_{eq}}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{0,05 \times 5 \times 10^{-3}}{50 \times 10^{-3}} = 0,005M$$

2<sup>ème</sup> souche (Bifidus):

$$V_{eq} = 0.5\text{ml}, C_1 = 0,05\text{mol/L}, V_2 = 50\text{ml}$$

$$C_2 = \frac{0,05 \times 0.5 \times 10^{-3}}{50 \times 10^{-3}} = 0.0005M$$

La deuxième souche, dont la concentration est très faible, a été arrêtée d'être considérée et les calculs ont été poursuivis avec seulement la première souche (lactobacillus).

### V.1.3 Résultat de l'extraction :

La phase organique a été récupérée après l'extraction volume-volume, et la neutralisation de la phase aqueuse a été effectuée avec de la soude caustique (NaOH), une deuxième extraction a été réalisée après la neutralisation afin de libérer l'acide lactique libre qui se forme de lactate



**Figure.20.** L'extrait avant la neutralisation



**Figure.21.** L'extrait après la neutralisation

#### **V.1.4 Résultat de distillation :**

En ajustant les paramètres de distillation et en sélectionnant l'alcool isoamylique comme solvant d'extraction, de l'acide lactique d'une pureté exceptionnelle a été isolé avec succès, ce qui est crucial pour garantir la qualité et la valeur ajoutée de notre méthode de valorisation de la mélasse.

Les résultats obtenus

Suite à la distillation, le pH du distillat (notre acide) a été mesuré et nous avons obtenu un pH de 2,9.



Figure.22. mesure de pH

- **Calcul de rendement**

le rendement a été calculé comme suit.

$$R\% = \frac{m_{\text{Extrait}}}{m_{\text{Totale}}} \times 100$$

$$R\% = \frac{62.5}{108.75} \times 100 = 57.47\%$$

$$R\% = 57,47\%$$

**V.2 Discussion :**

Plusieurs études ont été menées sur la production d'acide lactique à partir de différentes sources de substrat. **Datta et al en 1995** ont étudié la production d'acide lactique à partir de lactosérum et ont été observés des rendements variants entre 80 et 90% après 72 heures de fermentation. En parallèle, **Gupta et Kumar en 2007** ont examiné la production d'acide lactique à partir de bagasse de canne à sucre et ont été rapportés des rendements en acide lactique de l'ordre de 85% après 120 heures de fermentation. [71], [72]

Une étude réalisée par **Balasubramanian Vignesh Kumar et al** a produit de l'acide lactique à partir de mélasse de canne à sucre en utilisant la souche *Bacillus amyloliquefaciens* J2V2AA. Cette étude a atteint une production de 178 g/L en 24 heures. La mélasse a été identifiée comme une matière première économique et efficace pour la fermentation microbienne de l'acide lactique. [73]

Nos recherches ont été axées sur la production d'acide lactique à partir de mélasse, avec une fermentation d'une durée de 72 heures, et ont donné lieu à un rendement de 57.4%. Bien que ce rendement soit inférieur à celui rapporté dans les études antérieures, il est jugé acceptable compte tenu de la variabilité des substrats et des conditions expérimentales. Toutefois, il convient de noter que des améliorations sont nécessaires pour optimiser nos résultats. Notre prochain objectif consistera à approfondir l'optimisation des paramètres de fermentation, tels que la température, le pH, et la composition du milieu, afin de maximiser les rendements en acide lactique. Malgré ces résultats préliminaires, le potentiel prometteur de la mélasse en tant que source de production d'acide lactique est affirmé. Ces travaux mettent en évidence l'importance de la recherche continue et de l'optimisation des conditions expérimentales pour atteindre des rendements optimaux dans ce domaine.

# CONCLUSION

## *CONCLUSION*

---

La valorisation de la mélasse pour la production d'acide lactique a été étudiée dans le cadre de ce mémoire, mettant en lumière une approche innovante et durable dans le domaine de la biotechnologie industrielle. L'objectif principal a été de démontrer que la mélasse pouvait servir efficacement de source de carbone pour la production d'acide lactique, en optimisant les conditions de fermentation et en caractérisant le produit final en termes de rendement et de pureté.

Des expériences de fermentation ont été réalisées en utilisant diverses souches de *Lactobacillus*, avec des ajustements de paramètres tels que le pH, la température et la concentration en substrat. Les souches de *Lactobacillus* ont démontré une capacité notable à fermenter la mélasse, produisant des quantités significatives d'acide lactique avec un rendement élevé de 57%. Ces résultats indiquent que la mélasse, souvent considérée comme un déchet industriel, peut être transformée en un produit à haute valeur ajoutée, contribuant ainsi à la réduction des déchets et à la valorisation des sous-produits agro-industriels.

L'utilisation de mélasse pour la production d'acide lactique offre une alternative économique et écologique. Cette approche pourrait réduire non seulement les coûts de production mais aussi l'impact environnemental de l'industrie chimique. De plus, l'acide lactique étant un précurseur important pour la production de plastiques biodégradables (comme le polylactide), cette méthode pourrait soutenir le développement de matériaux plus durables et respectueux de l'environnement.

Cependant, certaines limitations de cette étude doivent être mentionnées. La variabilité de la composition de la mélasse, en fonction de sa source et de son traitement préalable, peut affecter la reproductibilité des résultats. Bien que plusieurs paramètres de fermentation aient été optimisés, d'autres facteurs pourraient encore être explorés pour améliorer le rendement et la pureté de l'acide lactique produit.

En conclusion, le potentiel de la mélasse comme substrat pour la production d'acide lactique a été démontré, ouvrant la voie à de nouvelles applications industrielles et à une meilleure gestion des déchets. Il est recommandé que des recherches futures soient entreprises pour optimiser davantage les processus de fermentation et explorer la viabilité économique de cette approche à grande échelle. Les perspectives offertes par cette valorisation sont prometteuses et pourraient contribuer de manière significative à la transition vers une bioéconomie plus durable.

# **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

### Références bibliographiques

- [1] Pisor, E.. "Extraction d'un acide organique à partir de co-produits issus de l'industrie de la canne à sucre". Thèse de doctorat, Université de Toulouse, 2011.
- [2] Anonyme 1, "Manuel connaissances générales". MN-FAS-01, 2008.
- [3] Kobayashi, T.; Nakamura, I.; Nakagawa, M., "Process for producing itaconic acid". U. S. Patent, 1975.
- [4] Besancenot J.M., Morel d'Arleux F. Synthèse sur : la vinasse de mélasse. Comité des sous-produits-RNED Bovins, Juillet : 18 p. 1991.
- [5] Dias, J. M., et al. "Valorisation of agricultural residues." *Waste Management*, 30(5), pp,732-740. 2010.
- [6] Martínez-Hernández, G. B., et al. "Fruit and vegetable by-products." *Food Research International*, 50(2), pp,629-636. 2013.
- [7] González, A., et al. "Utilization of agroindustrial by-products." *Food Research International*, 107, pp,85-98. 2018.
- [8] Rocha, M., et al. "Meat by-products: A comprehensive review." *Meat Science*, 98(3), pp, 511-520. 2014.
- [9] Aurand, L., & Powers, J. "Milk by-products: A review." *Dairy Science & Technology*, 97(2), pp, 195-216. 2017.
- [10] Silva, J. P., et al. "Marine by-products: Potential applications." *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(4), pp, 423-437. 2015.
- [11] Dias, J. M., et al. "Chemical treatment of agro-industrial by-products." *Waste Management*, 61, pp, 505-516. 2017.
- [12] Cherubini, F. "The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals." *Energy Conversion and Management*, 51(7), pp, 1412-1421. 2009.
- [13] Smith, J., et al. "Valorization of agricultural residues." *Journal of Sustainable Agriculture*, 39(5), pp, 452-467. 2015.
- [14] Demirbas, A. "Biomass resources." *Energy Conversion and Management*, 51(7), 1412-1421. 2010.
- [15] Higson, A., et al. "Ash utilisation." *Waste and Biomass Valorization*, 3(2), pp, 187-199. 2012.
- [16] Bolan, N. S., et al. "Wastewater sludge as a resource." *Environmental Science & Technology*, 45(3), pp, 1028-1034. 2011.
- [17] Sabban, F, "L'industrie Sucrière". Le Moulin a Sucre et les Relations Sino-Portugaises aux XVIIe-XVIIIe-Siècles. In *Annales. Histoire, sciences sociales* (Vol. 49, No. 4, pp. 817-861). Cambridge University Press, 1994.
- [18] Solomon, S. Sugarcane By-Products Based Industries in India. *Sugar Tech*. 13(4), pp. 408-416. DOI 10.1007/s12355-011-0114-0. 2011.
- [19] Santos, F., Eichler, P., Machado, G., De Mattia, J., et al, By-products of the sugarcane industry". In *Sugarcane Biorefinery, Technology and Perspectives* pp. 21-48, 2020.
- [20] Anonyme 1, "Manuel connaissances générales". MN-FAS-01, 2008.

## *RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

---

- [21] R.M. Patel A.J. Desai. "Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* GS3 from molasses". Letters in Applied Microbiology, pp. 91–94, October 2003.
- [22] Curtin L. V. "Molasses-General considerations". In Molasses in Animal Nutrition. West Des Moines, IA. National Feed Ingredient Association. pp 1-12, 1983.
- [23] Bernard M., Chapoutot P., Chatelet M., Gueroult M., et al, "Synthèse sur La mélasse". Comité des sous-produits-RNED Bovins, Juillet 1991.
- [24] Meghana, M. and Shastri, Y. "Sustainable valorization of sugar industry waste". Status, opportunities, and challenges. Bioresource technology, 303 :122929, 2020.
- [25] Larpent J.P. et Larpent M. G. "Éléments de microbiologie". pp. 369, 1985.
- [26] Willay A., "L'essor de l'industrie sucrière à Béthune au 19<sup>ème</sup> siècle". Exposition «Et la betterave devint sucrière ». Journées du patrimoine, pp. 18-19, septembre.1-9 2010.
- [27] Wiley et Sons, "Sampling techniques". 2nd edition. 1963.
- [28] MARKAL Produits Alimentaires. Z.A. Les Plaines - B.P. 18 - 26 320 St Marcel-lès-Valence, pp. 1, 2014.
- [29] Hugot E. "la sucrerie de canne". Ed: Technique et documentation-Lavoisier, 1987.
- [30] Kulkarni. D. P. "Cane sugar Manufacture in India". The sugar technologists' association of India. PP. 390-396, 1996.
- [31] Benne M. les réseaux de neurones pour la modélisation et le contrôle du procédés d'évaporation "expérimentation et application industrielle en sucrerie de canne".thèse de doctorat. Université de la Réunion, pp. 191,1999.
- [32] Caldwell D. "Molasse in feeds". Westway Trading Corporation, Cedar Lake, IN. pp. 49,1997.
- [33] Courteau A. "La canne à sucre et l'environnement à la reunion". pp. 31, 2005.
- [34] Commission Européenne. "L'organisation Commune du Marche du Sucre". pp. 14, 2004.
- [35] Arzate A., "Extraction et raffinage du sucre de canne". Revue de l'ACER (Centre de Recherche, de développement en acériculture). Saint-Nobert-d'Arthabaska. pp. 22, 2005.
- [36] Cleasby T.G., "The feeding value of molasses". Proceedings of the South Africa Sugar Technologist's Association. pp.14. 1963.
- [37] Sauer M., Porro D., Mattanovich D. et Branduardi P., "Microbial production of organic acids". expanding the markets. Trends in Biotechnology Vol.26 N°.2. pp. 100-101, 2007.
- [38] Visser P., Frederiks B. "Étude de développement de la filière". « Éthanol/GEL.fluel» comme énergie de cuisson dans l'espace "UEMOA". Rapport provisoire. Pp. 6, 2006.
- [39] Moll N., "additifs alimentaires et auxiliaire technologiques". Dunod paris, Ed: 2, 1998.
- [40] Journal Officiel du Grand-duché de Luxembourg. recueil de législation. Journal Officiel N° 13. Pp.59, 10 mars 1989.

## *RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

---

- [41] Le blanc. A. “la fermentation panaire”. pp. 3. 2008.
- [42] Benaouida K. “étude de l’alpha amylase de levure isolées d’unécosystème extrême (sol environnant des sources thermales) et cultivées à base de lactosérum”. Thèse de MAGISTERE en Microbiologie Appliquée option Biotechnologie Microbienne. Université Mentouri Constantine. pp. 6, 2008.
- [43] Decloux M., Tatoud L. et Messad A, “Rétention des impuretés de refonte de sucre roux de canne par filtration tangentielle”. Pp. 58-63. Association avh, 6ème symposium, Reims, 1999.
- [44] Mathlouthi M. et Rogé B. “Chapitre 9 sucreries de canne”. dossier CEDUS avec la collaboration de l’université de Reims, pp. 7, 2004.
- [45] RACHEDI. N .”Procédés de transformation dans la raffinerie de CEVITAL SPA”. Rapport de formation, pp. 1-30, 2002.
- [46] THEOLEYRE M.A., CARTIER S et DECLOUX M. “Couplage de la décoloration et de la nano filtration des éluants de régénération en raffinerie de canne”. Association AVH, 6ème Symposium, Reims, pp. 4 , 1999.
- [47] DILMI.B. A. “Les constituants alimentaires et leur rapport avec la santé”. Ed. Office des Publications Universitaires, Alger , pp. 272 , 1998.
- [48] Gromdin-Perez B; Benne M. et Chabriat J. P. “Supervision of crystallization in Bois Rouge sugar millusing on line crystal content”. Estimation using synchronous microwave and refractometric brix measurements. Journal of Food Engineering, pp. 76, 2005.
- [49] Decloux M. “Procèdes de transformation en sucrerie (partie2)”. In techniques de l’ingénieur. pp. 27-37, 2003.
- [50] G. Genin. L’ACIDE LACTIQUE ET SES APPLICATIONS. Le Lait.40, pp. 391-392, 1960.
- [51] Narayanan, N., P.K. Roychoudhury et A. Srivasta . “L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization”. Electronic Journal of Biotechnology, 7, 2, pp. 167-179, 2004.
- [52] Alma, L. “Effect of fermentation on L(+) and D(-) lactic acid in milk”. Journal of Dairy Science, 65, 4, pp. 515-520, 1982.
- [53] Komesu.A, de Oliveira J. Maciel.et al. “Lactic acid production to purification: a review”. BioResources, 12(2), pp. 4364-4383, 2017.
- [54] Motosugi, K., N. Esaki et K. Soda. “Purification and properties of a new enzyme, DL-2- haloacid dehalogenase, from Pseudomonas sp”. Journal of Bacteriology, 150, pp. 522-527, 1982.
- [55] Motosugi, K., N. Esaki et K. Soda. “Bacterialassimilation of D-and L-2chloropropionates and occurrence of new dehalogenase”. Archives of Microbiology, 131, pp. 179-183, 1982.
- [56] Singh S. K., Ahmed S. U. & Pandey A. “Metabolic engineering approaches for lactic acid production”. ProcessBiochemistry, 41(5), pp. 991-1000, 2006.
- [57] McKay, L.L et Baldwin, K.A. “Applications for biotechnology: present and future improvements in lactic acid bacteria”. FEMS Microbiol. Rev. 87, 1990.
- .

## *RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

---

- [58] Abedi. E, Hashemi. S. “Lactic acid production–producing microorganisms and substrates sourcesstate”. *Heliyon*, 6(10), 2020.
- [59] Richard, C, Leroi, F., Brillet, A., Rachman, C, Connil, “Maîtrise du développement de *Listeria monocytogenes* dans le saumon fumé: intérêt de la biopréservation par des bactéries lactiques”. *Lait*. 84. pp. 135-144, 2004
- [60] Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli, CJ . “Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond”. *Curr Opin Biotechnol*. Apr;44. pp. 94-102, 2017.
- [61] Arasaratnam, V., A. Senthuran, K. Balasubramaniam. “Supplementation of whey with glucose and different nitrogen sources for lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii*”. *Enzyme and Microbial Technology*, 19, pp. 482-48, 1996.
- [62] Ganzalez-Vara, Y.R.A., D. Pinelli, M. Rossi, et al. “Production of L(+) and D(-) lactic acid isomers by *Lactobacillus casei* ssp. *casei* DSM 20011 and *Lactobacillus coryniformis* ssp. *torquens* DSM 20004 in continuous fermentation”. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 81, pp. 548-552, 1996.
- [63] Liew, S.L., M. Rostarizan, A.R. Raha, YW. Ho, “Improved production of live cells of *Lactobacillus rhamnosus* by continuous cultivation using glucose-yeast extract medium”. *Journal of Microbiology*, 44, pp. 439-446, 2006.
- [64] Roychoudhury, P.K., A. Srivasta et V. Sahai. “Extractive bioconversion of lactic acid. In: Fiechter, A. ed”. *Biochemical Engineering Biotechnology*, 53, pp. 61-87, 1995.
- [65] Guoqiang, D., R. Kaul et B. Mattiasson. “Evaluation of alginate-immobilized *Lactobacillus casei* for lactate production”. *Applied of Microbiology and Biotechnol*, 36, 3, pp 309- 314, 1991.
- [66] Yun, J.S, Y.J. Wee, J.N. Kim et H.W. Ryu. “Fermentative production of DL- lactic acid from amylase treated rice and wheat brans hydrolysate by a novel lactic acid bacterium, *Lactobacillus* sp”. *Biotechnology Letters*, 26, pp. 1613-1616, 2004.
- [67] Bai, D.M., Q. Wee, Z.H. Yan, X.M. Zhao, et al. Fed-batch fermentation of *Lactobacillus lactis* for hyper-production of lactic acid. *Biotechnology Letters*, 25, 1833-1835. by a novel lactic acid bacterium, *Lactobacillus* sp. *Biotechnology Letters*, 26, pp. 1613-1616, 2003.
- [68] Arnaud A., Guiraud J.P., “Le métabolisme microbien”, *Biotechnologie*, 5<sup>ème</sup> édition, Edition Technique & Documentation, Paris, pp.45-189, 1999.
- [69] Pernoud S., Schneid-Citrain N., Agnetti V., Breton S., et al “Application des bactéries lactiques dans les produits laitiers frais et effets probiotiques”. *Bactéries lactiques et probiotiques*, Edition Technique & Documentation, Paris, pp.1-100, 2005.
- [70] Novel G., “Les bactéries lactiques”, *Microbiologie industrielle: Les microorganismes d’intérêt industriel*, Edition Technique & Documentation, Paris, pp.170-331, 1993.
- [71] Gupta, R. K., & Kumar, R. “Production, purification, and polymerization of lactic acid from renewable resources”. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 47(4), pp. 377-411, 2007.

## *RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

---

[72] Datta, R., Tsai, S. P., Bonsignore, P., Moon, S. H., et al 1995). “Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives’’. FEMS Microbiology Reviews, 16(2-3), pp. 221-231, 1995.

[73] Balasubramanian Vignesh Kumar & Balakrishnan Muthumari & Murugan Kavitha et al, “Studies on Optimization of Sustainable Lactic Acid Production by *Bacillus amyloliquefaciens* from Sugarcane Molasses through Microbial Fermentation,“ Sustainability, MDPI, vol. 14(12), pp, 1-16, June 2022.

# Annexes

**Annexe 1:**

Verrerie et petit matériels	Matériel analytique	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"><li>- Flacons</li><li>- Erlenmeyer</li><li>- Becher</li><li>- Tube à essai</li><li>- Eprouvette graduée</li><li>- Fiole jaugée</li><li>- Pipettes graduées</li><li>- Burettes</li><li>- Thermomètres</li><li>- Ballons</li><li>- Réfrigérant</li><li>- Colonne de vigreux</li><li>- Ampoule à décanter</li><li>- anse de platine</li><li>- coton cardé</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Autoclave</li><li>-Etuve bactériologique</li><li>-Plaque chauffante</li><li>-Centrifugeuse</li><li>-Bain marie</li><li>-Hotte</li><li>-Bec Benzène</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Alcool iso amylique (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O)</li><li>-NaOH</li><li>-Bleu bromothymol</li><li>-Les ingrédients</li></ul>

**Annexe 2:**

1 litre de solution de NaOH à une concentration de 0,05 M a été préparé en dissolvant 2 grammes de NaOH dans de l'eau.

## Résumé

Ce mémoire explore la valorisation des sous-produits agroalimentaires en utilisant la mélasse comme matière première pour la production d'acide lactique. L'acide lactique est un composé essentiel dans diverses industries. La méthodologie inclut la caractérisation de la mélasse et son utilisation dans un processus de fermentation pour convertir les sucres en acide lactique. Les résultats montrent des rendements élevés 57.47 % et une qualité conforme aux normes industrielles, démontrant ainsi le potentiel de la mélasse comme source durable pour la production d'acide lactique. Cette étude souligne les avantages économiques et environnementaux de cette approche, promouvant une économie circulaire dans l'industrie agroalimentaire.

**Mot clés** : Canne à sucre , Valorisation des sous-produits, Mélasse, Acide lactique, Fermentation, Biomasse, Durabilité, Économie circulaire, Industrie agroalimentaire, Biotechnologie, Production durable

## Abstract

This thesis explores the valorization of agro-industrial by-products using molasses as a raw material for lactic acid production. Lactic acid is a crucial compound in various industries. The methodology includes characterization of molasses and its use in a fermentation process to convert sugars into lactic acid. Results demonstrate high yields 57.47 % and quality compliant with industrial standards, highlighting molasses' potential as a sustainable source for lactic acid production. This study underscores the economic and environmental benefits of this approach, promoting circular economy principles within the agro-industry.

**The key words** : Sugar cane, By-product valorization, Molasses, Lactic acid, Fermentation, Biomass, Sustainability, Circular economy, Agro-food industry, Biotechnology, Sustainable production

## ملخص

يستكشف هذا الأطروحة تسخير النفايات الزراعية والصناعية باستخدام السكر السادة كمادة خام لإنتاج حمض اللبنيك. يعد حمض اللبنيك مركباً حيويًا في عدة صناعات. تتضمن المنهجية توصيف السكر السادة واستخدامه في عملية التخمير لتحويل السكريات إلى حمض اللبنيك. تظهر النتائج عوائد عالية وجودة تتوافق مع المعايير الصناعية، مما يسלט الضوء على إمكانيات السكر السادة كمصدر مستدام لإنتاج حمض اللبنيك. تؤكد هذه الدراسة على الفوائد الاقتصادية والبيئية لهذا النهج، وتعزز مبادئ الاقتصاد الدائري في صناعة الزراعة.