

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

*Université 8 Mai 1945 – Guelma*  
*Faculté des Sciences et de la Technologie*  
*Département de Génie des Procédés*



*Mémoire de Fin d'Etudes pour l'obtention du diplôme de*  
*Master Académique*

**Domaine : Sciences et Technologie**

**Filière : Génie des procédés**

**Spécialité : Génie chimique**

---

*Valorisation des écorces d'agrumes et mélasse pour la fabrication*  
*de l'acide citrique*

---

***Présenté par :***

AMIRA Rawane Feyrouz  
HADDAD Chahinaz

***Sous la direction de :***

PR BENHAMZA Mohamed El Hocine

**Année universitaire : Juillet 2024**



## Dédicace

(وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

عظم المراد فهان الطريق، فجاءت لذة الوصول...

Avec un débordement d'amour et de gratitude, je dédie ce travail de mémoire pour l'obtention de diplôme de master à la lumière de ma vie, ma **chère Maman**, qui a toujours illuminé les chemins de ma vie avec son amour et ses prières. Merci pour chaque instant de don sans limite, pour chaque mot d'encouragement et de soutien et pour la foi inébranlable en mes capacités.

Cette réalisation est le fruit de tes sacrifices et de ton amour infini.

À mon **cher Papa** qui m'a appris ce que signifie rêver et comment réaliser ses rêves. Mon père qui est toujours là à chaque étape, m'encourageant et me soutenant et dont la présence dans ma vie me donnait sécurité et confiance. Merci pour tout l'amour et les conseils que tu m'as prodigués.

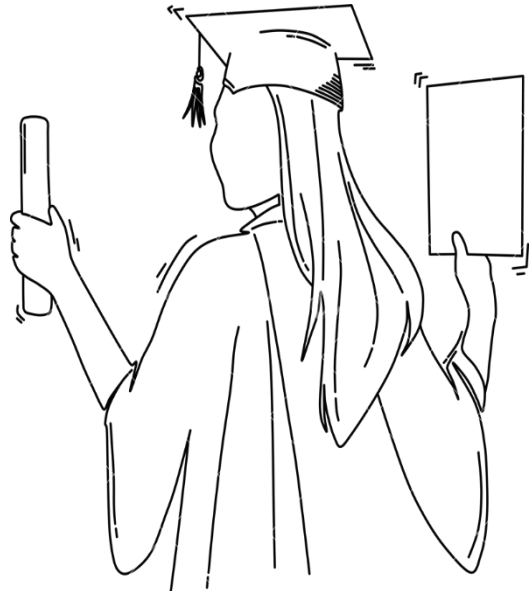
À mon soutien inébranlable et à la sécurité de mes jours, à mon inspiration pour réussir, à mes jours les meilleurs et les plus purs, à la lumière de mes yeux, de mes sœurs et frères.

**Afaf, Rim, Khaled et Jamal**

À mes compagnons de route et mes amies des moments difficiles : **Rawane, Nouha et Aida**

À tous ces êtres chers, ce mémoire est un hommage et une appréciation pour chaque instant de soutien, chaque mot d'encouragement et chaque geste d'amour qu'ils m'ont offert.

*HADDAD Chahinaz*





## Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Après un parcours d'études qui a duré des années et qui a porté avec lui beaucoup de difficultés, de labeur et de fatigue, me voici aujourd'hui, sur le seuil de ma remise de diplôme, cueillant les fruits de mon labeur et levant mon chapeau avec fierté.

Gloire à Dieu avec amour, reconnaissance et gratitude, je n'aurais pas pu faire cela sans la grâce de Dieu, alors louange à Dieu au début et à la fin...

Je dédie ce succès à moi-même d'abord, puis à tous ceux qui ont œuvré avec moi pour achever ce parcours. Puissiez-vous toujours être mon soutien éternel...

À la lumière de mes jours et l'éclat de ma vie, celle dont les prières contenaient toujours mon nom, celle qui a consacré sa vie à la réalisation de mes ambitions, mon modèle et mon premier professeur, de qui j'ai appris la force et la confiance en soi, celle dont la satisfaction m'apporte le succès **ma Maman**. Que Dieu prolonge ta vie avec santé et bien-être.

À celui dont mon nom ne se sépare pas du sien, cet homme grandiose qui m'a appris la vie de la plus belle des manières et qui a tout donné sans compter, mon unique refuge et ma joie constante **mon Papa**. Que Dieu te garde pour nous.

À mes sœurs **NADA** et **DJANA** et mon frère **THAMER**, sources d'inspiration et de force, le choix de mes jours et le réconfort de mes moments, les bougies qui illuminent mon chemin, la prunelle de mes yeux.

À ceux qui ont fait ressortir le meilleur de moi-même et m'ont toujours encouragé à atteindre mes ambitions, ceux qui m'ont soutenu sans limites et m'ont donné sans rien attendre en retour, mes amis, **CHAHINAZ** et **NOUHA**

Le voyage n'a pas été court et les choses n'ont pas été faciles, mais avec l'aide de Dieu, je l'ai fait.

*Rawane Feyrouz AMIRA*



# Remerciements

Nos vifs remerciements s'adressent tous particulièrement à Allah de nous avoir donné le courage et la volonté de poursuivre nos études.

**Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à notre encadreur, PR BENHAMZA Mohamed El Hocine**, qui n'a ménagé aucun effort pour nous guider et nous conseiller et qui nous a fourni un soutien scientifique et technique constant. Ses précieux conseils et ses remarques minutieuses ont été la base de notre réussite dans la réalisation de cette recherche. Sans ses orientations, nous n'aurions pas pu atteindre ce résultat.

**Nous** remercier le président et les membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous adressons nos remerciements les plus profonds à **Monsieur le Doyen** de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre et de l'Univers Dr Guerwi Yassine, pour la mise à disposition de toutes les ressources du laboratoire de biologie dont nous avons besoin en termes d'outils, appareillage de mesure et produits chimiques.

À nos chers professeurs : **Dr Ksouri Rabah, Dr Ksouri Samir, Pr Mohamed Lyamine Chelaghmia, Dr Selaimia Radia et Dr Maissa Chouarfa**, nous sommes extrêmement reconnaissants pour vos aides et conseils dans l'accomplissement de la présente étude. Votre volonté de partager vos connaissances ont grandement enrichi notre expérience académique et ont permis à cette expérience d'atteindre son plein potentiel.

Nous exprimons notre reconnaissance à tous les chercheurs et ingénieurs des laboratoires du département de Génie des Procédés et de biologie : **M<sup>mes</sup> Meriem, Boukhdena Houda, M<sup>me</sup> Amina et M<sup>r</sup> Dahel Djalil** ainsi que **Dr Tahar Drabla** pour leur assistance et leur disponibilité. Leur expertise et leur soutien technique ont été essentiels à la réalisation de ce travail de recherche ainsi que leur dévouement et leur collaboration.

Nous tenons également à remercier nos grandes familles et amis pour leur soutien moral et leurs encouragements constants. Leur amour et leur soutien ont été une source de force et de réconfort pour nous dans les moments difficiles.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué à ce travail, que ce soit par un mot, une idée ou un soutien ; nous vous sommes reconnaissants et vous adressons toute notre gratitude. Nous prions Dieu de bénir ce travail et de le rendre bénéfique pour tous et qu'il soit le début d'un parcours scientifique réussi.

En conclusion, nous demandons à Dieu de nous guider tous, vers ce qui est bon et juste, et de faire de ce travail une œuvre bénéfique et continue pour nous et pour les autres.

# ***SOMMAIRE***

**Dédicace**

**Remerciements**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

## **INTRODUCTION GENERALE**

### ***Première partie : Etude Bibliographique***

#### **CHAPITRE I : Valorisation des Ecorces d'Agrumes et de Mélasse pour la production d'Acide Citrique**

<b>I.1</b>	Généralités sur les agrumes	P4
<b>I.2</b>	Le genre Citrus	P4
<b>I.2.1</b>	Origine des fruits genre Citrus	P4
<b>I.2</b>	Description morphologique et physiologique	P5
<b>I.2.3</b>	Propriétés thérapeutiques des fruits du genre Citrus	P5
<b>I.2.4</b>	Les espèces de fruits étudiés	P6
<b>I.3</b>	L'écorce d'agrumes	P8
<b>I.3.1</b>	Composition chimique globale des écorces d'agrumes	P9
<b>I.3.2</b>	Valorisation de l'écorce d'agrumes	P10
<b>I.3.2.1</b>	Définition	P10
<b>I.3.2.2</b>	Défis techniques et économiques	P11

<b>I.3.2.3</b>	Approches innovantes pour la valorisation des écorces d'agrumes	P12
<b>I.3.3</b>	Valorisation des écorces d'agrumes pour la production d'acide citrique	P13
<b>I.4</b>	La Mélasse	P14
<b>I.4.1</b>	Définition	P14
<b>I.4.2</b>	Les différents types de mélasses	P15
<b>I.4.3</b>	Composition biochimique de mélasse	P15
<b>I.4.4</b>	Caractéristiques physico-chimique de la mélasse	P17
<b>I.4.5</b>	Valorisation de la mélasse	P18

## **CHAPITRE II : Production d'Acide Citrique**

<b>II.1</b>	Généralités sur l'acide citrique	P19
<b>II.1.1</b>	Définition	P19
<b>II.1.2</b>	Production mondiale d'acide citrique	P19
<b>II.1.3</b>	Production national d'acide citrique	P20
<b>II.2</b>	Cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs)	P20
<b>II.2.1</b>	Les étapes enzymatiques du cycle de Krebs	P21
<b>II.3</b>	Le processus de fabrication d'acide citrique	P22
<b>II.3.1</b>	Préparation du substrat	P22
<b>II.3.2</b>	Inoculation	P23
<b>II.3.3</b>	Fermentation	P23
<b>II.3.3.1</b>	Source de carbone pour fermentation	P24
<b>II.3.3.2</b>	Source des minéraux pour fermentation	P27
<b>II.3.4</b>	Précipitation, extraction et purification de l'acide citrique	P27
<b>II.4</b>	Utilisations de l'Acide citrique	P27

## *Deuxième partie : Etude Expérimentale*

### **CHAPITRE III : Matériels, Méthodes et Analyses**

<b>III.1</b>	Introduction	P29
--------------	--------------	-----

<b>III.2</b>	Objective du travail	P29
<b>III.3</b>	Matériels utilisés	P30
<b>III.3.1</b>	Matériels et produits chimiques	P30
<b>III.4</b>	Méthodes	P31
<b>III.4.</b>	La production d'aspergillus Niger	P31
<b>III.4.1.</b>	Étapes de préparation	P31
<b>III.4.2</b>	Production d'acide citrique	P33
<b>III.4.2.1</b>	Étapes de préparation des écorces d'agrumes	P33
<b>III.4.2.2</b>	Étapes de préparation de la mélasse	P35
<b>III.4.2.3</b>	Confection d'un fermenteur au niveau du laboratoire	P37
<b>III.4.2.4</b>	Etapas de préparation d'un milieu de culture	P37
<b>III.5</b>	Les Analyses	P39
<b>III.5.1</b>	Analyse de l'acide citrique par titrimétrie	P39
<b>III.5.2</b>	Analyse des produits de substrat par infrarouge (IR)	P43
<b>III.5.2.1</b>	Analyse chimique par infrarouge des écorces d'agrumes et de la mélasse de canne à sucre	P43
<b>III.5.2.2</b>	Méthode de mesure	P44
<b>III.5.3</b>	Mesurer la quantité de sucre dans une solution	P45
<b>III.5.3.1</b>	Réfractomètre	P45
<b>III.5.4</b>	Mesure la concentration en oxygène	P46
<b>III.5.4.1</b>	Sondes à oxygène pour la recherche scientifique	P46
<b>III.5.4</b>	Rhéomètre	P46
<b>III.5.4.1</b>	Définition	P46
<b>III.5.4.2</b>	Principe de mesure	P47
<b>III.5.5</b>	Les études métalliques	P47
<b>III.5.5.1</b>	Les métaux recherchés	P47
<b>III.5.5.2</b>	Principe de la méthode de spectrométrie d'absorption atomique à flamme	P48

## **Chapitre IV : Résultat et Discussions**

<b>IV.1</b>	Introduction	P49
<b>IV.2</b>	Les matières premières (substrat)	P49
<b>IV.2.1</b>	Les écorce d'agrumes	P49
<b>IV.2.2</b>	La mélasse	P52
<b>IV.3</b>	Le champignon <i>Aspergillus Niger</i>	P55
<b>IV.3.1</b>	Identification macroscopique	P55
<b>IV.3.2</b>	Identification microscopique	P56
<b>IV.4</b>	Le milieu de culture	P56
<b>IV.4.1</b>	<u>Essai 1</u> : écorces d'agrumes et Glucose	P57
<b>IV.4.2</b>	<u>Essai 2</u> : écorces d'agrumes et mélasse miel	P60
<b>IV.4.3</b>	<u>Essai 3</u> : écorces d'agrumes et mélasse poudre	P62
<b>IV.5</b>	L'acide citrique obtenu	P64

### **CONCLUSION GENERALE**

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**



## **Résumé**

Ce travail d'étude consiste à valoriser des déchets agricoles, à savoir des écorces d'agrumes et de mélasse afin de produire un acide organique d'importance industrielle, l'acide citrique. Le processus de production se fait par fermentation à l'aide de champignon *Aspergillus Niger*. Ce travail de recherche vise à trouver des solutions innovantes et respectueuses de l'environnement pour exploiter ces déchets au lieu de les éliminer de manière traditionnelle non durable.

Les écorces d'agrumes et la mélasse sont collectées auprès de sources locales et sont traitées de différentes manières, à savoir la dilution, l'ajustement du pH, la filtration et la stérilisation. Le processus de fermentation avec *Aspergillus Niger* est réalisé dans des conditions spécifiques de température, de pH et de niveaux d'aération, afin de favoriser la croissance du champignon et de stimuler la production d'acide citrique.

Les expériences ont révélé que les écorces d'agrumes et la mélasse sont de riches sources de glucides adaptés au processus de fermentation, et les résultats ont montré une augmentation significative de la production d'acide citrique par rapport aux méthodes traditionnelles avec des taux de rendement plus élevés. Les résultats indiquent également l'efficacité d'*Aspergillus Niger* dans la conversion des sucres des écorces et de la mélasse d'agrumes en acide citrique. L'étude a également prouvé la faisabilité de l'utilisation des écorces d'agrumes et de la mélasse comme alternative prometteuse aux matières premières traditionnelles ; ils sont plus économiques et plus efficaces dans la production d'acide citrique et ont un bon impact sur l'environnement.

**Mots-clés :** Acide citrique, *Aspergillus Niger*, écorces d'agrumes, mélasse.

## **Abstract**

This study work consists of valorizing agricultural waste, namely citrus peels and molasses in order to produce an industrially important organic acid, the citric acid. The production process is through fermentation using *Aspergillus Niger* fungus. This research work aims to find innovative and environmentally friendly solutions to exploit this waste instead of disposing of it in traditional unsustainable ways.

The citrus peels and molasses are collected from local sources, and are processed in different ways namely dilution, pH adjustment, filtration and sterilization. The fermentation process using *Aspergillus Niger* is carried out under specific conditions of temperature, pH and aeration levels, in order to promote the growth of the fungus and stimulate the production of citric acid.

The experiments revealed that citrus peels and molasses are rich sources of carbohydrates suitable for the fermentation process, and the results showed a significant increase in citric acid production compared to traditional methods with higher yield rates. The results also indicate the effectiveness of *Aspergillus Niger* in converting sugars from citrus peels and molasses into citric acid. The study also proved the feasibility of using citrus peels and molasses as a promising alternative to traditional raw materials; they are more economical and more efficient in the production of citric acid and of good impact on the environment.

**Keywords:** Citric acid, *Aspergillus Niger*, citrus peels, molasses.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة الى تثمين المخلفات الزراعية، وتحديداً قشور الحمضيات ودبس السكر، من أجل إنتاج حمض عضوي مهم صناعياً، وهو حمض الستريك. تتم عملية الإنتاج من خلال التخمير باستخدام فطر الرشاشيات السوداء. ويهدف هذا العمل البحثي إلى إيجاد حلول مبتكرة وصديقة للبيئة لاستغلال هذه النفايات بدلاً من التخلص منها بالطرق التقليدية غير المستدامة .

يتم جمع قشور الحمضيات ودبس السكر من مصادر محلية، وتتم معالجتها بطرق مختلفة وهي التخفيف وتعديل الرقم الهيدروجيني والترشيح والتعقيم. تتم عملية التخمير باستخدام فطر الرشاشيات السوداء في ظروف محددة من درجات الحرارة ودرجة الحموضة ومستويات التهوية، من أجل تعزيز نمو الفطر وتحفيز إنتاج حامض الستريك .

كشفت التجارب أن قشور الحمضيات والدبس هي مصادر غنية بالكربوهيدرات المناسبة لعملية التخمير، وأظهرت النتائج زيادة كبيرة في إنتاج حامض الستريك مقارنة بالطرق التقليدية ذات معدلات إنتاجية أعلى. كما تشير النتائج إلى فعالية فطر الرشاشيات السوداء في تحويل السكريات من قشور الحمضيات ودبس السكر إلى حامض الستريك. وكما أثبتت الدراسة أيضاً جدوى استخدام قشور الحمضيات والدبس كبديل واعد للمواد الأولية التقليدية؛ فهي أكثر اقتصاداً وأكثر كفاءة في إنتاج حامض الستريك ولها تأثير جيد على البيئة.

**الكلمات المفتاحية:** حمض الستريك، الرشاشيات السوداء، قشور الحمضيات، دبس السكر.

## LISTE DE FIGURES

N°	Titre des figures	Pages
<b>Figure I.1</b>	Schéma détaillant la structure du péricarpe de l'orange	05
<b>Figure I.2</b>	Feuilles, fleurs et fruits d'oranger	06
<b>Figure I.3</b>	Feuilles, fleurs et fruits de citron	07
<b>Figure I.4</b>	Processus de méthanisation	13
<b>Figure I.5</b>	Miel de la mélasse	14
<b>Figure II.1</b>	Structure chimique d'acide citrique	19
<b>Figure II.2</b>	Cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs)	21
<b>Figure II.3</b>	Organigramme de l'utilisation de l'acide citrique	29
<b>Figure III.1</b>	Préparation de czapek simple	32
<b>Figure III.2</b>	Echantillons cultivés dans les milieux	33
<b>Figure III.3</b>	Lavage des écorces d'agrumes	33
<b>Figure III.4</b>	Séchage des écorces d'agrumes	34
<b>Figure III.5</b>	Broyage des écorces d'agrumes	34
<b>Figure III.6</b>	Tamissage des écorces d'agrumes	35
<b>Figure III.7</b>	Mélasse liquide, poudre dilué et liquide dilué ( <i>de gauche à droite</i> )	35
<b>Figure III.8</b>	Mesure de pH de La mélasse	36
<b>Figure III.9</b>	Filtration de la mélasse	36
<b>Figure III.10</b>	Préparation du milieu de culture	38
<b>Figure III.11</b>	Banc expérimental	39
<b>Figure III.12</b>	schéma de titrage (ou la titrimétrie)	40
<b>Figure III.13</b>	Protocole expérimental de titrage	42
<b>Figure III.14</b>	Réfractomètre	45
<b>Figure III.15</b>	Sondes à oxygène	46
<b>Figure III.16</b>	Rhéomètre	47
<b>Figure III.17</b>	Principe de rhéomètre dynamique à cône	47
<b>Figure III.18</b>	Spectromètre d'absorption atomique PINAACLE 900T	48
<b>Figure IV.1</b>	Résultats de quantité de métaux lourds mesurée par spectromètre d'absorption atomique	50
<b>Figure IV.2</b>	Infrarouge des écorces d'agrumes et mélasse poudre	51

<b>Figure IV.3</b>	Résultats de quantité de cadmium mesurée par spectromètre d'absorption atomique	53
<b>Figure IV.4</b>	Résultats de quantité de cuivre mesurée par spectromètre d'absorption atomique	53
<b>Figure IV.5</b>	Résultats de quantité de chrome mesurée par spectromètre d'absorption atomique	53
<b>Figure IV.6</b>	Infrarouge de mélasse miel	54
<b>Figure IV.7</b>	Aspergillus Niger dans czapek simple	55
<b>Figure IV.8</b>	Identification microscopique d'Aspergillus Niger	56
<b>Figure IV.9</b>	Courbe de la concentration en acide citrique et de sucre dans le milieu en fonction du nombre de jours de fermentation	59
<b>Figure IV.10</b>	La viscosité on pas en fonction de Gradient de vitesse 1/s	60
<b>Figure IV.11</b>	Courbe de la concentration en acide citrique et de sucre dans le milieu en fonction du nombre de jours de fermentation	61
<b>Figure IV.12</b>	La viscosité on pas en fonction de Gradient de vitesse 1/s	62
<b>Figure IV.13</b>	Une courbe de la concentration en acide citrique et de sucre dans le milieu en fonction du nombre de jours de fermentation	63
<b>Figure IV.14</b>	La viscosité on pas en fonction de Gradient de vitesse 1/s	64

## **LISTE DES TABLEAU**

<b>N°</b>	<b>Titre des Tableaux</b>	<b>Pages</b>
<b>Tableaux I.1</b>	Les différentes espèces du genre Citrus	04
<b>Tableaux I.2</b>	Principaux composés de l'orange	07
<b>Tableaux I.3</b>	Composition biochimique moyenne du citron	08
<b>Tableaux I.4</b>	Composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes (g/100g bs)	09
<b>Tableaux I.5</b>	la composition moyenne de la mélasse	10
<b>Tableaux I.6</b>	teneur moyenne de mélasse en vitamine	16
<b>Tableaux I.7</b>	composition moyenne de la mélasse en matière minérale	16
<b>Tableaux II.1</b>	Comparaison entre la FMS et FML	17
<b>Tableaux III.1</b>	Descriptif des Equipement utilisés	24
<b>Tableaux III.2</b>	Descriptif des produits chimiques utilisés	30
<b>Tableaux III.3</b>	Ingrédients de milieu czapek simple	31
<b>Tableaux IV.1</b>	Les quantités de premier essai	32
<b>Tableaux IV.2</b>	Différente mesures de l'expérience	57
<b>Tableaux IV.3</b>	Mesures à l'aide d'un Sondes à oxygène pendant la fermentation pour un échantillon de 250 g du milieu	58
<b>Tableaux IV.4</b>	Résultats de spectres du milieu de fermentation avec écorces d'agrumes et glucose	59
<b>Tableaux IV.5</b>	Les quantités de deuxième essai	60
<b>Tableaux IV.6</b>	Déférente mesures de l'expérience	61
<b>Tableaux IV.7</b>	Les quantités de troisième essai	62
<b>Tableaux IV.8</b>	Déférente mesures de l'expérience	63

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**Bs** Base sèche

**Brix** Unité de mesure la concentration en sucre dans une solution aqueuse

**Ppm** Parts par million

**AC** Acide citrique

**ATC** Cycle de l'acide tricarboxylique

**FMS** Fermentation en milieu solide

**FML** Fermentation en milieu liquide

**IR** Infrarouge

**KBR** Potassium bromide

**AAS** Spectroscopie absorption atomique

**%DO** Pourcentage de dissolution de l'oxygène

## **INTRODUCTION GENERALE :**

La production d'agrumes en Algérie constitue une richesse agricole d'un grand intérêt, notamment avec la disponibilité d'un climat propice à sa culture ; elle a augmenté durant la saison agricole en cours 2023-2024, atteignant plus de 1,8 million de tonnes grâce au développement de cette filière, notamment dans les wilayas du sud. (**Agri Algérie, 2024**).

Par ailleurs, les agrumes sont un choix économique adapté à la production à valeur ajoutée des acides organiques tel que l'acide citrique AC. L'acide citrique est l'intermédiaire le plus important du tous le cycle de **KREBS**, c'est un produit présent dans de nombreux fruits et légumes. Il a été isolé en 1784 par **SCHEEL** à partir du jus de citron (**ZERGAT F, 1996**).

L'acide citrique est considéré comme un composant chimique très important, il est utilisé dans plusieurs domaines d'industrie et de production comme l'alimentaire (confiserie, conserverie, boissons, etc.), le cosmétique, l'industrie pharmaceutique et médical.

Ce produit chimique, l'acide citrique, est importé en grandes quantités en Algérie et sa consommation correspond à 20 000 tonnes en 2009. Ces dernières années quelques entreprises Algériennes se sont orientées vers la production nationale pour répondre au besoin de marché local, cependant la production ne couvre qu'environ 20% des besoins.

Le présent travail de recherche consiste à valoriser les déchets et sous-produits agricoles, notamment les écorces d'agrumes et la mélasse, afin de produire un acide organique d'importance industrielle « l'acide citrique » ainsi que d'encourager la production de cet acide au niveau national. Ces sous-produits sont des sources qui allient rentabilité et durabilité. L'objectif est donc de mettre en valeur les écorces d'agrumes et la mélasse ; et ainsi réduire l'impact sur l'environnement et le gaspillage des ressources. Le processus de production de l'AC se fait par fermentation à l'aide de champignon *Aspergillus Niger*, une technique innovante, efficace et peu coûteuse.

### **Problématique :**

Afin d'examiner la possibilité de produire l'acide citrique à base des écorces d'agrumes et de mélasse ; une problématique principale se pose à savoir : **Comment transformer les**



## **sous-produits et déchets agricoles (mélasse et écorces d'agrumes), en matières premières pour la production d'acide citrique ?**

Et pour répondre à cette problématique principale ; on doit optimiser les conditions de fermentations (température, pH, concentration et quantité de sucres) afin d'augmenter la productivité. Le processus de conversion des écorces d'agrumes et de mélasse en acide citrique doit nécessairement être plus rentable que les méthodes classiques de production d'acide citrique et quelle modifications et améliorations peuvent être apportées au processus de pour accroître l'efficacité de la production et optimiser les coûts. En dernier lieu, quelles sont les étapes nécessaires pour faire passer ce processus d'une échelle de laboratoire à une échelle de production industrielle.

### **Hypothèses :**

L'utilisation des écorces d'agrumes et de mélasse comme sources de production d'acide citrique peut être un moyen efficace et durable qui réduit la quantité de déchets agricoles et industriels, préservant ainsi l'environnement.

Il existe des conditions optimales (température, pH, concentration et sucre totale) qui améliorent la productivité de l'acide citrique en utilisant des champignons aspergillus noirs.

Le processus de conversion des écorces d'agrumes et de la mélasse en acide citrique peut être économique et réalisable par rapport aux méthodes traditionnelles de production d'acide citrique.

Il est possible de produire de l'acide citrique répondant aux normes industrielles et alimentaires en contrôlant soigneusement les conditions de fermentation et en surveillant en continu toutes les étapes de la production.

Afin de vérifier la validité de ces hypothèses, trois études expérimentales différentes sont menées. Dans le premier essai, des écorces d'agrumes et de glucose comme substrat sont utilisés, tandis que dans la deuxième et troisième expérience, le glucose est remplacé par la mélasse miel et par la mélasse poudre respectivement.

Le processus est effectué en utilisant un ensemble de dispositifs et d'instruments de laboratoire :

- fermenteur ;

- Appareils de mesure et de contrôle (pH mètre, température contrôleur, pompe d'air).
- Appareils d'analyse chimique (Spectrophotomètre IR, Absorption Atomique)
- Dispositifs de préparation et de stérilisation (Etuve, autoclave)
- Dispositifs de mesure et de surveillance (Microscopes, réfractomètre, rhéomètre)

Le présent mémoire est divisé en quatre chapitres avec une introduction générale et conclusion générale.

Le premier chapitre est consacré à l'étude des écorces d'agrumes et la mélasse de canne à sucre avec leurs différentes propriétés et composition, ainsi que les méthodes possibles de valorisation de ces déchets et sous-produit.

Le deuxième présente la définition de l'acide citrique et les différentes étapes de production et ses nombreuses utilisations.

Quant au quatrième chapitre, il est consacré à la présentation des méthodes et appareils expérimentaux utilisés dans ce travail.

Le dernier chapitre présente les résultats et discussion obtenus dans ce travail.

**Mots Clés :** Acide citrique, *Aspergillus Niger*, Agrume, écorces d'agrumes, Mélasse.

*Première partie :*  
*Etude Bibliographique*

## *Chapitre I*

### *Valorisation des Ecorces d'Agrumes et de Mélasse pour la production d'Acide Citrique*

## I.1 Généralités sur les agrumes :

Les agrumes sont une culture fruitière importante dans le monde entier. Ils sont cultivés dans beaucoup de pays. Ainsi, l'industrie des agrumes est l'une des principales composantes de l'agriculture [Dambier, D. 2011] [Biche, M. 2012].

L'Algérie est l'un des principaux pays producteurs d'agrumes de la région méditerranéenne avec une superficie réservée aux agrumes au niveau national est estimée à 62606 ha où l'industrie algérienne des agrumes joue un rôle clé d'un point de vue économique [Schimmenti, E. 2013].

Les agrumes comprennent trois principaux genres : Citrus, Fortunella et Poncirus. La majorité des agrumes appartiennent au genre Citrus [Bénédicte et Michel, B. 2011]

## I.2 Le genre Citrus :

Le genre "Citrus" comprend de nombreuses espèces comestibles, dont les oranges, les citrons verts, les pamplemousses et les mandarines [Tableau I.1] [Milind et Dev. 2012].

**Tableau I.1** : Les différentes espèces du genre Citrus

Nom commun	Nom scientifique
Les oranges	<i>Citrus sinensis</i>
Les citrons	<i>Citrus limon</i>
Les mandarines	<i>Citrus reticulata</i>
Les clémentines	<i>Citrus clementina</i>
Les pamplemousses	<i>Citrus paradisi</i>

La plupart des espèces ont un fruit très distinctif et sa pulpe est constituée de « poils » et devient juteuse à maturité, généralement plus ou moins acide, sucré ou amer (pamplemousse). Le fruit est appelé agrumes et ses graines sont généralement polyembryonies. Les feuilles et les fleurs ont des glandes produisant des huiles essentielles [Dorji, K et Yapwattanaphun, C. 2011].

### I.2.1. Origine des fruits genre Citrus :

L'origine du genre Citrus semble être les régions de l'Asie du Sud-Ouest et de l'Inde. Ce sont les Européens qui ont découvert les agrumes pour la première fois au IIIe siècle avant JC. Les premiers vergers d'orangers ont été créés en Espagne en 1792 et en Italie en 1870 [Lim. T.K. 2012]. Traditionnellement, dans la médecine arabe classique, les fleurs étaient utilisées pour préparer des huiles, tandis que les écorces sont utilisées pour traiter les coliques. En Europe, les feuilles et les fleurs étaient considérées comme substance avec des propriétés antispasmodiques, stomacales et sédatives. En médecine traditionnelle chinoise, l'écorce de

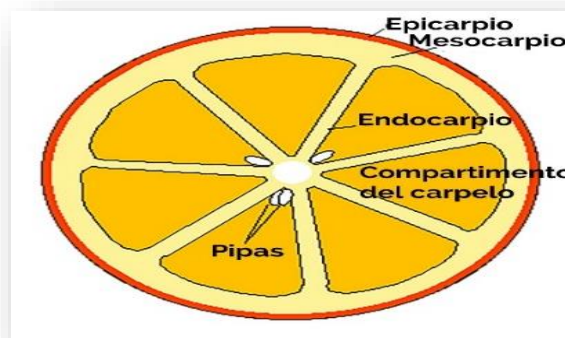
le citron est recommandée pour traiter les troubles digestifs et les douleurs thoraciques et abdominales [Liang, Y. 2009].

### **I.2.2. Description morphologique et physiologique :**

Les fruits des principaux cultivars et variétés d'agrumes se distinguent par la couleur, la forme, le calibre, la composition du jus et le temps d'affinage,

Botaniquement parlant, les agrumes sont des baies charnues avec des écorces, la structure est divisée en trois parties bien différenciées : l'exocarpe appelée flavédo et le mésocarpe appelé flavédo Albédo ainsi que l'endocarpe (pulpe).

L'exocarpe est la surface externe du fruit. Il est coloré par des pigments caroténoïdes représentant 8% à 10% du fruit. Il contient de nombreuses glandes qui sécrètent des essences aromatiques et sa répartition est irrégulière [Figure I.1], [Ramful, D. 2010].



**Figure I.1 :** Schéma détaillant la structure du péricarpe de l'orange

### **I.2.3. Propriétés thérapeutiques des fruits du genre Citrus :**

De nombreuses études ont montré que les espèces du genre citrus sont riches en principes actifs utilisés à des fins thérapeutiques ou dans le domaine cosmétique et alimentaire ; tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes [Shohaib, T. 2011].

#### **Parmi les propriétés thérapeutiques de ces principes actifs citons :**

- Effet veinotonique, facilitant la circulation sanguine (flavonoïdes)
- Effet antispasmodique (extrait d'écorce)
- Effet hypocholestérolémiant (naringine, hétéroside flavonique)
- Effet antibactérien (surtout l'huile essentielle)
- Effet antiviral (flavonoïdes)
- Effet anti-tumoral (limonène, tangéretine, nobilétine)
- Traitement des insomnies et de la nervosité (feuilles et fleurs)

- Stimulation de l'appétit (zestes)
- Effet antioxydant et anti radicalaire (flavonoïdes)
- Effet antiallergique (flavonoïdes)
- Effet antidépresseur (polyphénols) [Santos, R. M.2011].

#### I.2.4. Les espèces d'agrumes étudiés :

Les espèces d'agrumes étudiés dans le présent travail de recherche sont :

##### a) L'Orange :

L'oranger est un arbre d'environ 10 m de haut aux feuilles vert foncé. Les fleurs sont blanches et ont un fort arôme. La période de mûrissement des fruits est de 10 à 12 mois, ils sont de tailles moyennes, sphériques, de couleur orange [Figure I.2]. Il existe plusieurs variétés et les plus connues sont : Sanguine, Thomson Navel, Valencia latte, Washington Navel Powell, Ananas de Floride, Orange du Portugal, etc. [LOUSSERT.1989].



**Figure I.2 :** Feuilles, fleurs et fruits d'oranger

##### ✓ **Classification :**

Taxonomiquement les oranges douces sont de :

**Ordre :** *Sapindales*

**Sous-ordre :** *Geraniineae*,

**Classe :** *Dicotyledoneae*

**Famille :** *Rutaceae*

**Genre :** *Citrus*

**Espèce :** *Citrus sinensis*

##### ✓ **Composition chimique et valeur nutritive de l'orange :**

Les principaux composés de l'orange sont résumés dans le [Tableau I.2] :

**Tableau I.2 : Principaux composés de l'orange**

<i>Constituants</i>	<i>Teneurs</i>
<b>Glucides</b>	De 8.5 à 12 % dans le fruit à maturité, représenté par le saccharose (à 40 %), le fructose et le glucose.
<b>Acides organiques</b>	1.2 %, surtout de l'acide citrique et de l'acide malique.
<b>Autres composés Energétiques</b>	Lipides concentrés dans les pépins et peu de protéines.
<b>Vitamines</b>	Teneur élevée en vitamine C (40 à 80 mg pour 100g). Vitamines hydrosolubles de groupe B (B1 et B9, en particulier), Vitamine A (0.05 à 0.2 mg pour 100g) et vitamine E (0.24mg pour 100g).
<b>Minéraux</b>	Calcium, Magnésium, Potassium et Phosphore.
<b>Oligoéléments</b>	Fer, Cuivre, Zinc, Manganèse, Nickel, Iode, trace de Bore et de Sélénium.
<b>Fibres</b>	Une teneur de 2.4 % en moyenne, riches en pectine (environ 50 %).
<b>Flore mésophile</b>	Levures et lactobacilles indispensables à sa bonne digestion.
<b>Substances aromatiques</b>	Composés complexes caractéristiques de ce fruit (Aldéhydes, esters... etc.), avec des essences odorantes
<b>Pigments</b>	Donnent à la pulpe sa couleur plus ou moins marquée jaune orange pour les flavonoïdes et les caroténoïdes, jaune pour les xanthophylles, rouge ou rouge violace pour les anthocyanes.

*b) Le Citron :*

Le citronnier fait partie de la famille des Rutacées qui est un petit arbre (arbuste) vert, parfumé, de taille variable de 2 à 10 m de haut [Figure I.3], [Gollouin et Tonelli. 2011].



**Figure I.3 :** Feuilles, fleurs et fruits de citron



✓ **Classification :**

La classification de citron est la suivante [Padrini, F. 1996] :

**Ordre :** Sapindales

**Famille :** Rutaceae

**Genre :** Citrus

**Espèce :** Citrus limon

✓ **Composition chimique et valeur nutritive du citron :**

La composition chimique ainsi que les valeurs nutritives du citron sont données dans le tableau ci-dessous [Tableau I.3] :

**Tableau I.3 :** Composition biochimique moyenne du citron.

<b>Composition</b>	<b>Teneur</b>
Eau	90,20 g/100 g
Glucides	3,16 g/ 100g
Protéines	0,70 g/100g
Lipides	0,60 g/100g
Acides organiques	4,88 g/100g
Fibres alimentaires	0,50 g/100g
Les vitamines	51,26 mg/100g
Les minéraux	211,95 mg/100g
Apports énergétiques	36,48 K Calories

### **I.3. L'écorce d'agrumes :**

Compte tenu de sa riche, l'écorce d'agrumes est un substrat très précieux fonctionnel (composée d'huiles essentielles, de fibres, de caroténoïdes, de vitamine C et de composés phénoliques). Il est largement utilisé dans l'alimentation, les cosmétiques, les produits de santé nutritionnelle et dans l'industrie de production de biocarburants et de matériaux biodégradables [Ledesma Escobar, C. A., et Luque de Castro, M. D. 2014].

L'écorce d'agrumes est composée de phénoliques, principalement des flavonoïdes et des acides phénoliques. Ces flavonoïdes présents dans les agrumes sont des flavanones glycosylées et des flavonoïdes polyméthoxylation. Ces flavonoïdes ont des propriétés antioxydants, thérapeutiques, antiviral, antifongique et antibactérien [Bocco et al.1998].

### I.3.1. Composition chimique globale des écorces d'agrumes :

La composition chimique des écorces d'agrumes change sous l'influence de divers facteurs, dont la diversité. De plus, au sein d'une même variété, il y'a une différence de composés qui dépend des facteurs climatiques et environnementaux. La composition chimique, exprimée en (g/100 g) base sèche (bs) d'écorces d'agrumes des principales variétés comestibles est donnée dans le [Tableau I.4].

La teneur en eau des écorces d'agrumes est très élevée de (2,97 à 3,79 g/g bs), c'est-à-dire 60% à 75% (base humide) et les sucres solubles sont de (6,52 à 47,81 g/100 g bs). Il s'agit donc d'un sous-produit hautement périssable sujet à la fermentation et au développement de moisissures. De plus, ce sous-produit est riche en protéines de (1,79 à 9,06 g/100 g bs) et des minéraux de (2,52 à 10,03 g/100 g bs), alors qu'il est moins riche pour les lipides de (0,48 à 4g/100g bs). L'écorce est riche en composés facilement digestibles et fournit une variété de nutrition fonctionnelle chez les humains et les animaux comme complément alimentaire. Les agrumes sont une source importante d'arômes et d'huiles essentielles, allant de 0,6 % à 1%. Les écorces contiennent aussi des pigments, essentiellement des caroténoïdes (entre 0,01 et 0,20g/100g bs), mais aussi des anthocyanes dans le cas par exemple pour les oranges Sanguines [Farhat et Al.2011], [Tableau I.4].

**Tableau I.4 :** Composition chimique globale des écorces de différentes Variétés d'agrumes (g/100g bs) [M'HIRI, N. 2015]

<i>Variété de citrus</i>	<i>Orange</i>	<i>Mandarine</i>	<i>Citron</i>
<b>Eau</b>	2,97-3,14	3,79	3,01
<b>Lipides</b>	0,95	1,57	0,48
	1,66	2,97	1,51
	4,00	-	1,89
<b>Protéines</b>	1,79	2,16	5,87
	2,67	7,33	6,79
	7,90	8,55	7,88
	8,01	-	-
	9,06	-	-
<b>Glucides</b>	15,01	8,50	6,52
	46,60	18,27	13,77
	47,81		14,89
	2,56	3,96	2,52
	3,31	4,06	4,68

<b>Minéraux</b>	3,45	10,03	-
	4,24	-	-
<b>Fibres</b>	6,30	7,14	14,00
	13,38	27,89	-
	13,90	-	-
	41,64	-	-
	42,13	-	-
<b>Caroténoïdes totaux</b>	0,04	0,20	0,01
<b>Phénols totaux</b>	0,67	0,78	2,45
	0,961	2,91	4,40
	1,13	17,21	13,01
	1,89	-	-
	2,51	-	-
	3,94	-	-
	7,30	-	-
	16,03	-	-
	19,62	-	-
<b>Huiles essentielles</b>	0,6-1	-	-
<b>Vitamine C</b>	0,145-1,15	0,280	0,109

### **I.3.2. Valorisation de l'écorce d'agrumes :**

#### **I.3.2.1. Définition :**

La valorisation se réfère au processus de recyclage des déchets, en les transformant en matières premières et en créant de nouveaux produits. Il s'agit d'un processus qui vise à créer de la valeur ajoutée aux déchets à travers l'innovation et l'accès à de nouveaux produits qui apportent une valeur économique et écologique ajoutée. Ceci à travers une série de processus chimiques et biotechnologiques lorsqu'on parle du recyclage des déchets agricoles et des produits alimentaires en particulier [Chandrasekaran, M. 2012].

La valorisation des déchets est une solution économique et environnementale majeure car elle permet de réduire la quantité de déchets et de polluants. En outre, elle ajoute de la valeur économique et introduit de nouveaux produits basés sur les déchets en tant que matière première [Addou, A. 2009].

### **I.3.2.2. Défis techniques et économiques :**

Bien que la valorisation des écorces d'agrumes soit un domaine prometteur présentant plusieurs perspectives pour transformer un sous-produit (souvent un déchet) vers un produit de valeur et une source de profit, ce domaine se heurte à plusieurs défis techniques et économiques tels que :

#### **Défis techniques :**

##### **a. Traitement et conservation des écorces :**

Les agrumes sont généralement influencés par une variété de facteurs externes au cours de leur formation, comme les pesticides et les produits chimiques. Cela peut rendre difficile le processus de réutilisation des croûtes pour de nouveaux produits et nécessiter des techniques de traitement complexes. Les agrumes varient également dans leur composition en fonction de leur source, ce qui rend difficile de généraliser les résultats sur tous les agrumes. Ces derniers pourrissent facilement de sorte que les croûtes doivent être traitées rapidement après la production pour éviter leur décomposition. Afin de résoudre ce problème, le séchage est développé pour assurer le stockage le plus longtemps possible, ce qui est à son tour un processus qui requiert une précision de traitement et est considéré comme coûteux pour être rentable [R, HUET et LEDERGERBER, A.1964].

Les écorces d'agrumes constituent environ 30% du poids total des fruits. Elles renferment un grand nombre de composés chimiques essentiels qui peuvent être extraits et utilisés dans différentes industries. En générale, la matière sèche des écorces contient principalement des huiles essentielles (limonène), de la pectine, des fibres, des sucres, des acides organiques essentiels (tels que l'acide citrique et malique), ainsi qu'une grande quantité de flavonoïdes (présents dans la plupart des espèces d'agrumes), [LIOUANE, F. 2015]. L'extraction sélective implique l'utilisation de techniques spécifiques et peut entraîner des coûts élevés.

##### **b. Déchets générés par les procédés de valorisation :**

L'évaluation des écorces d'agrumes vise à minimiser les déchets en les transformant en produits de valeur. Toutefois, il est important de noter que ce processus, tout comme d'autres processus industriels, peut produire d'autres déchets en fonction des technologies employées dans le processus de fabrication. Il est donc essentiel de minimiser les impacts sur l'environnement des déchets produits par ce procédé.

### **✚ Défis économiques :**

#### **a) Coût de la collecte et de transport des écorces :**

La valorisation économique des écorces d'agrumes est fortement influencée par les coûts de collecte et de transport. Car ce processus pose des défis économiques liés à la collecte, aux transports et à la transformation efficace de ces sous-produits pour obtenir un bénéfice économique optimal. Il est souvent difficile de trier ces écorces qui s'accumulent rapidement, en particulier lorsque l'usine se trouve dans une agglomération. De surcroît, transformer ces déchets en produits commerciaux utilisables exige des investissements importants et une expertise avancée [R, HUET.1964].

#### **b) La durabilité et la réduction de l'impact environnemental :**

La durabilité et la réduction de l'impact environnemental sont des défis économiques majeurs à relever dans le processus de valorisation des déchets agricoles, y compris les écorces d'agrumes. L'utilisation des agro-ressources et leurs déchets sont motivée par leur abondance et leur biodégradabilité avec un apport de valeur ajoutée justifiant toute valorisation industrielle. Il est donc important de choisir des technologies de traitement appropriées afin de réduire les coûts et d'atteindre la rentabilité ; en prenant en considération l'aspect environnemental et en réduisant au minimum les déchets [M'HIRI, N. 2015].

#### **c) Innovation et développement de marchés :**

La valorisation des écorces d'agrumes est un enjeu économique important qui présente des innovations et de nouveaux produits. Cependant, comme pour tout nouveau mode de production, les coûts restent élevés en plus du manque de marchés, de recherche et de développement. Pour cela, il est nécessaire d'investir dans la recherche et développement et d'établir des partenariats.

En résumé, la majorité des défis techniques et économiques de la valorisation des croûtes d'agrumes ne se limitent pas à l'idée de transformer les déchets en produits utilisables mais en assurant la viabilité économique [Corinne Tanguy, Gisela Argenti. 2007].

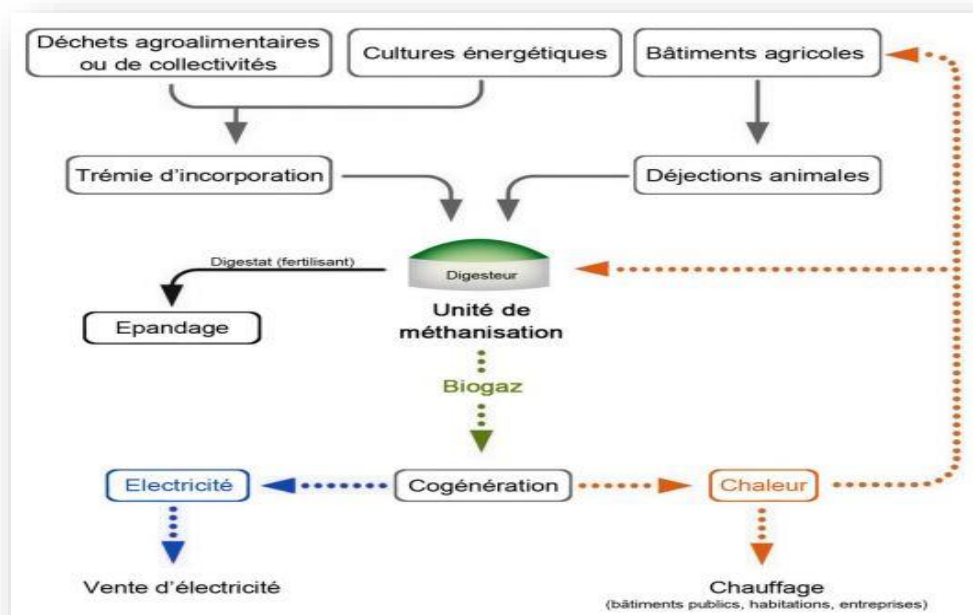
### **I.3.2.3. Approches innovantes pour la valorisation des écorces d'agrumes :**

Jusqu'à il y a quelques années, l'utilisation des écorces d'agrumes était courante dans la vie quotidienne, et grâce à des méthodes traditionnelles il était possible de bénéficier de ces écorces et d'en extraire des matières importantes. Au fil du temps et de la nouvelle tendance aux processus de valorisation, il est devenu nécessaire de trouver d'autres méthodes capables de répondre à la demande croissante de matériaux extraits de ces croûtes de manière plus productive tout en respectant les normes de préservation de l'environnement ; devenues un

élément fondamental pour chaque activité industrielle. À partir de là, il a été nécessaire de chercher constamment et continuellement des méthodes avancées pour remplacer les procédés traditionnels ; afin que les processus de valorisation soient plus sélectifs, plus productifs et avec moins de coûts et d'impact environnemental [Briki Samia.2021].

Grâce à des processus sophistiqués, plusieurs composés importants peuvent être récupérés à partir des écorces d'agrumes tels que l'éthanol, le méthane, le limonène et la pectine, ainsi que les composants bioactifs aux propriétés antioxydants avérées (composés phénoliques, notamment les flavonoïdes) [Franck CURK].

L'utilisation des écorces d'agrumes comme source d'énergie renouvelable peut être considérée comme un domaine prometteur valorisant. Ces sous-produits sont riches en composés bioactifs qui peuvent être convertis en biocarburants solides ou liquides, tels que la biomasse ou le bioéthanol, grâce à des conversions sélectives appropriées. Les écorces d'agrumes peuvent également être utilisées pour produire du biogaz par digestion anaérobie [Sally EL KANTAR], [Figure I.4].



7

Figure I.4 : Processus de méthanisation

### I.3.3. Valorisation des écorces d'agrumes pour la production d'acide citrique :

L'acide citrique est un produit chimique sûr qui est utilisé dans de multiples industries, y compris l'industrie alimentaire, médicale, produits de nettoyage et dans de nombreux autres

secteurs. Ces dernières années, avec l'augmentation des applications de l'acide citrique, son marché a repris vie et sa production a continué d'augmenter [Esaïe Kouadio. 2017]. Elle est passée de 500 000 tonnes en 1992 à 1,8 million de tonnes en 2011 [Mattey, M. 1992]. C'est ce qui a rendu nécessaire une recherche permanente et continue afin d'obtenir une grande quantité de production au moindre coût et de haute qualité, tout en tenant compte l'aspect environnemental.

La production d'acide citrique à partir d'écorces d'agrumes est une idée captivante qui retient l'attention. En général, les agrumes incluant les oranges et les citrons, contiennent naturellement de l'acide citrique et qu'un grand pourcentage de celui-ci se trouve dans la peau externe de ces agrumes, appelé flavédo [R, HUET. 1964].

Ces écorces subissent un traitement particulier en présence de champignons tel que l'Aspergillus Niger pour produire de l'acide citrique. Cette méthode de production apporte une valeur ajoutée en transformant les déchets en matière première de manière sûre et respectueuse de l'environnement, pour produire l'un des composés les plus importants, qui à son tour est utilisé dans plusieurs industries chimiques et industrielles.

## **I.4 La Mélasse :**

### **I.4.1 Définition :**

La mélasse est un sous-produit (liquide ou poudre) de la production des sucres de canne ou de betterave. Elle contient 40 à 70% de sucre, très riche en minéraux tels que le potassium, le calcium, le magnésium et le phosphore. [Clément, J.M. 1978]

La mélasse miel apparaît comme un résidu coloré sirupeux, pâteux et collant. Brun foncé, non cristallisé, obtenu après agitation de la masse cuite finale [Curtin, L.V. 1983], [Figure I.5]. La mélasse peut-être aussi trouvée sous la forme d'une fine poudre brun foncé.



**Figure I.5 : Miel de la mélasse**

#### **I.4.2 Les différents types de mélasses :**

##### **a) Mélasse de canne à sucre**

C'est un sous-produit de la fabrication ou du raffinage du sucre de la canne à sucre. Sa teneur totale en sucre est supérieure à 46 % et son humidité est de 27 %. La teneur en matière sèche est supérieure à 79,5°Brix et son pH varie entre 5 et 6, [Larpen. 1985].

##### **b) Mélasse de betterave**

C'est un sous-produit de la fabrication ou du raffinage du sucre à partir de la betterave sucrière, sa teneur totale en sucres est supérieure à 48%, Le Brix est inférieur à 79°Brix et le pH varie entre 6 et 8 [Larpen. 1985].

##### **c) Mélasse raffinée**

C'est un sous-produit constitué des résidus de sirop obtenus lors du raffinage du sucre roux de betterave ou de canne à sucre, sa teneur totale en sucre est de 50 à 58 % et le pH varie entre 5 et 6, [Dubourg. 1972].

#### **I.4.3 Composition biochimique de mélasse**

La composition exacte de la mélasse est difficile à prévoir, car elle est affectée par le sol, les conditions climatiques, la variété et la maturité de la canne à sucre ou la betterave sucrière ; ainsi que les conditions variables du processus de production et de stockage

[Curtin, L.V.1983].

La composition moyenne de la mélasse est indiquée dans les tableaux suivants I.5, I.6 et I.7 :



**Tableau I.5 : la composition moyenne de la mélasse [Larpent et Larpent.1985 et Olbrich.2006]**

<i>Les composants (%)</i>	<i>Mélasse de canne</i>		<i>Mélasse de betterave</i>	
	<i>Selon</i>	<i>Selon</i>	<i>Selon</i>	<i>Selon</i>
	<i>Larpent</i>	<i>Olbrich</i>	<i>Larpent</i>	<i>Olbrich</i>
Matières sèche (°Brix)	80 (78-86)	80	80 (75-82)	83,5
Sucre totaux	54 (45-60)	62	47 (44-52)	53
Sucre réducteurs	19	15	2	ND
Saccharose	35	32	45	51
Non sucre organique	14	10	20	19
Cendre	12	8	10	11,5
Azote	0,5	0,5	2	1,6
Gomme	0,5 (0,4-5,0)	ND	Néant	ND

ND : (Non Déterminés).

**Tableau I.6 : teneur moyenne de mélasse en vitamine [Curtin, L.V. 1983]**

<i>Vitamines (mg/kg)</i>	<i>Mélasse de canne</i>	<i>Mélasse de betterave</i>
Biotine (B8)	0,36	0,46
Choline (B7)	745,0	716
Acide pantothénique(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

ND : (Non Déterminés).

**Tableau I.7** : composition moyenne de la mélasse en matière minérale [Caldwell. 1997]

<i>Éléments</i>	<i>Teneur</i>
Calcium (%)	0.57
Chlore (%)	1.19
Magnésium (%)	0.33
Phosphore (%)	0.10
Potassium (%)	3.98
Sodium (%)	0.21
Sulfure (%)	0.86
Cobalt (ppm)	2.45
Cuivre (ppm)	14.0
Fer (ppm)	297
Manganèse (ppm)	28.3
Zinc (ppm)	13.1

#### **I.4.4 Caractéristiques physico-chimique de la mélasse :**

❖ La densité :

La densité réelle de la mélasse est de l'ordre de 1,4 à 1,5 elle est supérieure à celle de l'eau [Hugot. 1987].

❖ La viscosité :

La viscosité de la mélasse augmente rapidement à mesure que sa température diminue. La viscosité augmente également avec le niveau Brix et également avec le pourcentage d'air emprisonné en dessous [Bernard et al.1991].

❖ La teneur en air :

La mélasse contient des bulles et le volume d'air représente environ 15 % du volume de la mélasse. [Kulkarni. 1996].

❖ La pureté :

La pureté de la mélasse est le rapport exprimé en pourcentage (%) entre le taux de sucre et la matière sèche (Brix) [Larpent et Larpent.1985 et Olbrich. 2006].

❖ Le Brix :

Le Brix est la concentration en matières sèches dissoutes (saccharose, réducteurs, acides, sels, etc.). En conséquence, un indice Brix pour la mélasse est souvent nettement du sucre réel. La mesure du Brix d'une solution sucrée, est obtenue par une lecture de l'indice de réfraction de la solution [Curtin, L.V. (1983) [Caldwell.1997]

#### **I.4.5 Valorisation de la mélasse :**

L'intérêt de la mélasse réside dans sa teneur en sucre résiduel et sa valeur de vitalité ; elle est utilisée dans l'alimentation animale, la production d'alcool, d'acides aminés ou de protéines, d'acides organiques ou comme substrats nutritionnels pour la production de levure de boulangerie [Courteau. 2005 et CE. 2004] [Arzati. 2005].

##### **✓ Valorisation de la mélasse pour la production d'acide citrique :**

Le substrat le plus utilisé industriellement pour la production de l'acide citrique par *Aspergillus Niger* est la mélasse de la betterave ou de la canne à sucre [Siboukeur et al. 2008 et Wang.1998]

**Chapitre 2 :**

***Production d'Acide Citrique***

## II.1 Généralités sur l'acide citrique :

### II.1.1 Définition :

L'acide citrique (acide 2-hydroxy-propane-1,2,3-tricarboxylique) est un acide métabolite des plantes et des animaux et est présent dans les agrumes et dans de nombreux fruits, Figure II.1. L'acide citrique pur est incolore, inodore, d'un goût trop aigre, facilement soluble dans eau avec une masse moléculaire de 192,124 g/mol [Angumeenal et Venkappayya. 2013] [Max et al.2010].

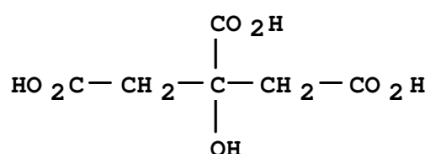


Figure II.1 : Structure chimique d'acide citrique

Il est principalement utilisé dans la préparation de citrates médicaux, confiserie, boissons gazeuses et sels effervescents. De petites quantités sont employées dans l'argenterie et la gravure ainsi que la teinture. Une quantité de 70% de la production est utilisé dans l'industrie alimentaire et des boissons comme acidifiant ou antioxydant, 20% est utilisé dans l'industrie pharmaceutique comme antioxydant pour conserver les vitamines, effervescent, correcteur de pH etc., et les 10 % restants sont utilisés dans l'industrie [Max et al. 2010].

### II.1.2 Production mondiale d'acide citrique :

L'acide citrique a été produit commercialement pour la première fois en Angleterre vers 1826 à partir de citrons italiens importés, en 1992 la production mondiale d'acide citrique a été estimée à 500 000 tonnes par an [Mattey. 1992].

Cette valeur est passée à 1,8 million de tonnes en 2011, et cette valeur continue d'augmenter avec l'accroissement de la demande d'acide citrique ; ceci en raison de sa diversification d'utilisations dans de vastes domaines de travail [Nadeem et al. 2014].

Les premiers équipements industriels remontent au début du siècle dernier, où l'extrait d'acide citrique a été produit à partir des citrons (qui contiennent entre 7% à 9%). En 1920, plus de 90% de la production mondiale d'acide citrique était produite en Italie et ceci par un procédé industriel de fermentation utilisant l'Aspergillus Niger comme micro-organisme. Aujourd'hui plus de 80 % de la production mondiale d'acide citrique est fabriquée par fermentation [Moretti et Felippone. 1996].

### **II.1.3 Production nationale d'acide citrique :**

L'acide citrique est un produit chimique utilisé dans de nombreuses industries nationales et la consommation nationale est estimée à environ 20 000 tonnes par an. Cependant, il n'existe actuellement aucune unité de production industrielle d'acide de grande capacité, et l'Algérie continue à nos jours à importer cet acide organique notamment de Chine, d'Inde et d'Europe [Touzi, Koceir et Mazouni. 1992].

La consommation nationale est en constante augmentation reste, obligeant l'Algérie à être confronté à de nombreux défis :

- Importer de grandes quantités d'acide citrique pour répondre à ses besoins
- Subir les fluctuations des prix internationaux et les risques d'approvisionnement
- Manquer d'opportunités de création d'emplois et de valeur ajoutée dans le secteur industriel local.

### **II.2. Cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs) :**

Le cycle de l'acide citrique AC est également connu par cycle d'Acide TriCarboxylique (ATC) ou cycle de KREBS. Le cycle de AC comporte huit réactions décrites par HANGS KREBS en 1940, qui se déroulent en deux grandes étapes enzymatiques : étapes enzymatiques de l'oxydation de l'Acétyl-CoA et régénération de l'oxaloacetate [Chériet.2021].

Ce cycle se déroule dans la mitochondrie chez les eucaryotes ou dans le cytoplasme pour les bactéries. En présence d'oxygène, l'acide pyruvate est décarboxylé (élimination d'atomes de carbone) pour former des résidus d'acétate à deux carbones, qui réagissent ensuite avec le coenzyme A (CoA-SH) pour donner l'acétyle coenzyme A (acétyle CoA). Dans cette réaction,  $\text{NAD}^+$  reçoit un atome d'hydrogène de l'acide pyruvique et un du coenzyme (CoA-SH), cette dernière agit comme un porteur de résidus acétate qu'il transfère à l'acide oxaloacétique pour former de l'acide citrique [Briki 2013], [Figure II.2].

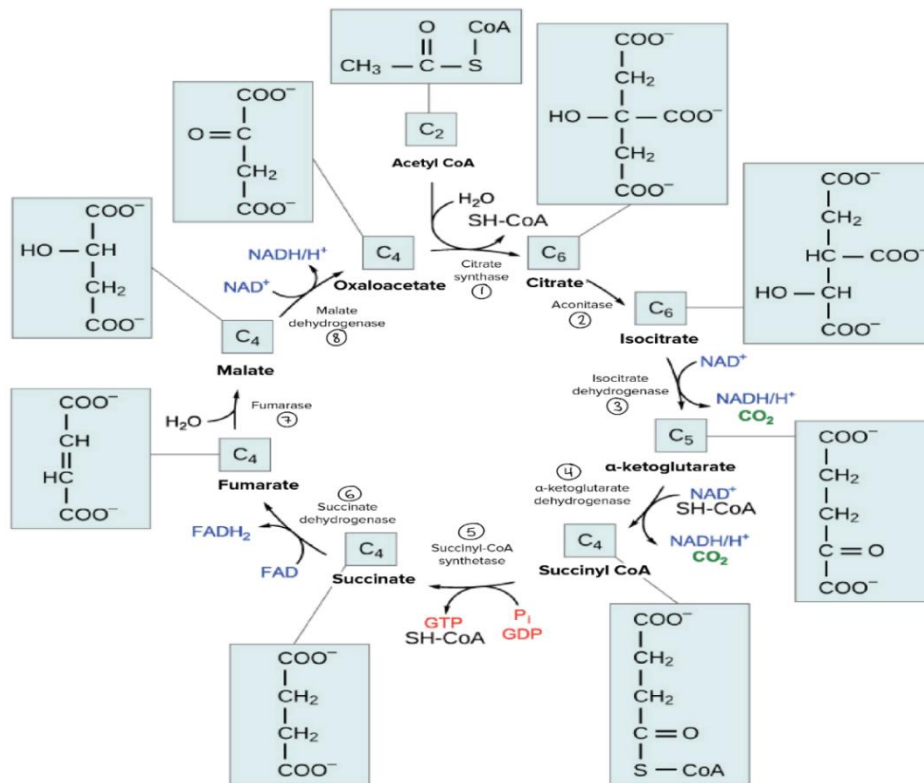


Figure II.2 : Cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs).

### II.2.1 Les étapes enzymatiques du cycle de Krebs :

Les étapes enzymatiques du cycle de Krebs comprennent plusieurs réactions. Qui se résumant comme suite :

#### PHASE 1 : Etapes enzymatiques de l'oxydation de l'Acétyl-CoA

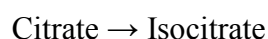
- **Formation du citrate :**

Représente une réaction de condensation, entre l'acétyl-CoA et l'Oxaloacétate pour former le citroyl-CoA, en présence d'eau, qui est hydrolysé en citrate et catalysée par citrate synthase.



- **Isomérisation du citrate en isocitrate :**

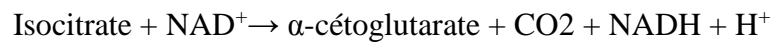
Cette isomérisation réversible est le résultat d'une déshydratation et d'une réhydratation. Il est catalysé par ce qu'on appelle une enzyme cis-aconitase, produit du cis-aconitate [Ferchichi. 2022].



- **Décarboxylation oxydative de l'isocitrate en cétooglutarate :**

À la troisième étape, l'isocitrate est oxydée et libère une molécule de dioxyde de carbone, laissant une molécule à cinq carbones la cétooglutarate. Pendant cette étape, NAD<sup>+</sup> est réduit à

la forme NADH, la réaction est catalysée par l'isocitrate déshydrogénase en Coenzyme NAD. Cette dernière est importante pour réguler la vitesse du cycle de l'AC [Ferchichi. 2022].



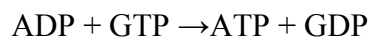
▪ **Déshydrogénation de l'a-cétoglutarate :**

Dans ce cas, elle est catalysée par le complexe multienzymatique de l'a-cétoglutarate déshydrogénase. C'est la deuxième réaction d'oxydoréduction qui est aussi importante dans la régulation du cycle de l'acide citrique. Dans ce processus il y'a réduction du NAD en NADH et libération d'une molécule de dioxyde de carbone [Ferchichi. 2022].

PHASE 2 : Régénération de l'oxaloacetate

▪ **Formation du succinate :**

La réaction est catalysée par une succinyl-CoA synthétase. La réaction de clivage du thioester (liaison très riche en énergie) est :



▪ **Déshydrogénation de succinate en fumarate :**

La réaction est Catalysée par la succinate déshydrogénase, conduisant à la formation d'une double liaison.

▪ **Hydratation du fumarate et formation du malate :**

La réaction est incitée par le fumarase ou fumarate hydratase.

▪ **Déshydrogénation du malate en oxaloacetate :**

La réaction est catalysée par la malate déshydrogénase en réduisant le NAD en NADH<sub>2</sub> [Ferchichi. 2022].

## **II.3 Le processus de fabrication d'acide citrique :**

### **II.3.1 Préparation du substrat :**

La première étape dans la production d'acide citrique consiste à choisir le substrat approprié, cette étape est cruciale et essentielle. Elle se déroule à travers des critères spécifiques à savoir, la facilité de traitement et de manipulation et le coût de la matière première, en plus de l'élément le plus important qui est l'utilisation d'une substance riche en sucres. Car la fonction du substrat est de fournir une source alimentaire pour les micro-organismes utilisés dans le processus de fermentation, tel que l'Aspergillus Niger. L'acide citrique commercial est facilement fabriqué à partir de divers éléments contenant des sucres tels que mélasse, extrait de



gousse de caroube, huile de colza, épis de maïs, marcs de pomme et de raisin, écorces de kiwi, en plus des écorces d'agrumes (citron, orange) qui sont considérés comme des sous-produits riches en sucre fermentescible (amylacée), qui sont valorisés est transformé en acide citrique [Chériet. 2021] [Roukas. 1998].

### **II.3.2 Inoculation :**

Une fois le substrat préparé, vient l'étape d'inoculation du milieu. Habituellement l'inoculation utilise des spores d'un certain micro-organisme, par exemple l'Aspergillus Niger, préalablement cultivées dans des conditions de croissance adéquates. Il est crucial de passer par cette étape afin d'inoculer le substrat dans le milieu de culture et de débiter la production d'acide citrique. Car, la fermentation permet de convertir les composants du milieu en acide citrique, à condition que les température et d'humidité soient adéquates [Aguis, Idoui, et Mechouche. 2008].

#### **✚ L'aspergillus Niger**

L'aspergillus Niger est un champignon filamenteux répandu, il peut être produit entre autres dans les écorces d'agrumes. Il est un des micro-organismes les plus importants utilisés en biotechnologie. Depuis plusieurs décennies, il est utilisé pour produire des enzymes alimentaires et des acides comme l'acide citrique [Schuster, Dunn-Coleman, Frisvad, et van Dijck. 2002].

#### **✚ Caractéristiques d'Aspergillus Niger :**

Diamètre : 4-5 cm

Durée de croissance : 7 jours

Couleur : noir

Environnement de croissance : czapek simple

Chaleur de la pépinière : 25°C

Température idéale pour la croissance : 25-30°C

PH : 1,5 – 9,8

### **II.3.3 Fermentation :**

L'Acide Citrique est l'un des produits chimiques les plus importants et le plus utilisé. La principale source industrielle de l'acide citrique est la fermentation, où un grand nombre de micro-organismes (bactéries, champignons et levures) peuvent être utilisés et le plus important d'entre eux étant le champignon Aspergillus Niger.

Différentes recherches ont démontré l'efficacité de ce champignon pour la fabrication d'une quantité importante d'acide citrique par fermentation. En plus, Il est possible d'utiliser les

écorces d'agrumes comme substrat de fermentation, et cette approche de valorisation favorise la durabilité et le recyclage.

Les deux méthodes de fermentation les plus courantes sont : la fermentation en milieu solide (FMS) et la fermentation submergée ou fermentation en milieu liquide (FML) ; cependant cette dernière est la plus couramment employée [Tableau II.1] [Chillon. 2012] [Boulais.1947].

**Tableau II.1** : Comparaison entre la FMS et FML [Azouz. 2015]

<i>Facteur</i>	<i>Fermentation Milieu Liquide (FML)</i>	<i>Fermentation Milieu Solide (FMS)</i>
Substrats	Substrats solubles (sucres)	Substrats polymères insolubles
Conditions aseptiques	Stérilisation par la chaleur / contrôlée	Traitement à la vapeur, conditions non stériles
Eau	Grands volumes d'eau utilisés et d'effluents pollués	Consommation limitée d'eau et peu d'effluent
Chaleur métabolique	Contrôle de la température facile	Faible capacité de transfert thermique
Aération	Limitée à l'oxygène soluble, haut niveau d'air requis	Aération simple et haute (échange d'air / substrat)
Contrôle du pH	Facile	Substrat solide tamponné
Agitation mécanique	Bonne homogénéisation	Conditions statiques
Echelle	Equipements industriels disponibles	Besoin de conception de nouveaux équipements
Inoculation	Inoculation simple / procédé continu	Par spores ou mycélium
Contamination	Risques de contaminations	Risque, notamment si le microorganisme pousse lentement
Consommation d'énergie	Consommation élevée	Faible consommation
Volume des équipements	Grand volume et grand coût	Petit volume et petit coût
Effluents et pollution	Grands volumes d'effluents pollués	Absence d'effluents, moins de pollution
Concentration	30-80/L	100-300/L

### II.3.3.1 Source de carbone pour fermentation :

La fermentation d'un substrat en acide citrique est liée à la qualité et à la quantité de la source de sucre. La nature du substrat qui dépend à son tour de la source de carbone aura

également une influence marquée sur l'activité métabolique des souches microbiennes [Vanden Berghe et al. 1999]. Parmi ces sources on a :

#### ✚ **Les écorces d'agrumes :**

Les écorces d'agrumes peuvent être utilisées pour la production d'acide citrique par fermentation. Elles contiennent tous les éléments nécessaires à la croissance du micro-organisme et à la production d'acide citrique, y compris :

- ❖ **Sucres naturels** : Le saccharose est le principal sucre présent dans les écorces d'agrumes et il est converti en acide citrique par le micro-organisme
- ❖ **Azote** : L'azote est un élément essentiel à la croissance du micro-organisme. Il est généralement présent en quantité suffisante dans les écorces d'agrumes
- ❖ **Phosphore** : Le phosphore est un autre élément essentiel à la croissance du microorganisme. Il peut être ajouté sous forme de phosphate de potassium ou d'autres sources de phosphore
- ❖ **Minéraux** : Les écorces d'agrumes contiennent également d'autres minéraux nécessaires à la croissance du micro-organisme, tels que le magnésium, le calcium et le fer.

#### ✚ **La Mélasse :**

La mélasse est l'effluent provenant de l'industrie sucrière et constitue le résidu non cristallisable restant après l'isolement du saccharose. Il contient du le sucre et constituerait donc un bon substrat pour la fermentation de l'acide citrique [Adham.2002] [Cevrimli, Kariptas et Ciftci. 2009] [El Aasar. 2006]. La mélasse est une solution très visqueuse de densité moyenne de 1,4. Elle est produite à raison de 30 kg/tonne de canne à sucre soit 3% de la matière première [Widsen P.2011]. Elle contient du saccharose, du glucose, du fructose, de l'eau ainsi que des minéraux. La quantité de mélasse obtenue dépend de la nature de la canne à sucre et sa composition dépend des processus de transformations à l'usine de sucre, tels que l'efficacité de la clarification des jus, la méthode de cristallisation pendant l'ébullition et la séparation des cristaux de sucre. La mélasse de canne à sucre a une odeur fruitée aromatique ou de caramel.

##### • Principaux constituants de la mélasse de canne à sucre :

- ✓ **Eau** : La mélasse de canne à sucre contient une quantité d'eau de 12-17%. L'eau utilisée dans le procédé de fabrication de sucre n'a pas d'effet sur la formation de la mélasse, à condition qu'elle ne contienne pas trop de sels solubles [Le Phuong T.2013].
- ✓ **Composés organiques** : Les sucres (saccharose, fructose, glucose) : Le saccharose est l'un des composés sucrés principaux dans la mélasse. La teneur en saccharose est

comprise entre 25%-40%, et la teneur en sucres réduits (glucose et fructose) est comprise entre 12%-30%. La teneur de glucose est de 14% maximum et celle de fructose est de 16% maximum ; ainsi la teneur en sucres totaux est supérieure à 50% [Le Phuong T.2013].

- ✓ **Composé organique azoté** : Les composés organiques azotés sont des composants non sucrés, contenant de l'azote. Ils proviennent des acides aminés présents dans les cellules de la plante de canne à sucre et sont formés en petites quantités par dégradation de protéines pendant la production et la purification de la matière première de jus de canne à sucre. Lorsque le sucre est extrait à partir des cannes à sucre, les composants azotés sont lessivés en solution, environ la moitié de l'azote du jus de canne à sucre se trouve dans la mélasse. La partie azotée représente environ 8% ou plus dans la mélasse, et correspond essentiellement à des acides aminés (Acide aspartique principalement) [Le Phuong T.2013].
- ✓ **Autres composés organiques** : On trouve également en très faible quantité dans la mélasse des acides carboxyliques tels que : l'acide oxalique, l'acide lactique, l'acide saccharique et des acides humiques, [Phuong T. 2013].

#### **Le Glucose :**

Le glucose est un sucre simple, un monosaccharide, dont la formule chimique est  $C_6H_{12}O_6$ . Il est composé de 6 atomes de carbone, 12 atomes d'hydrogène et 6 atomes d'oxygène. Le glucose peut exister sous deux formes principales, une forme linéaire et une forme cyclique.

- ❖ **Forme linéaire** : Dans cette configuration, les atomes de carbone sont disposés en une chaîne droite, chaque carbone portant des groupes hydroxyles (-OH) et des hydrogènes.
- ❖ **Forme cyclique** : le glucose est plus souvent présent sous forme cyclique, formant un anneau à six membres, issu de la réaction entre le groupe aldéhyde (CHO) au carbone 1 et le groupe hydroxyle au carbone 5. Deux anomères sont générés par cette cyclisation : Alpha ( $\alpha$ ) et Bêta ( $\beta$ ), qui diffèrent par la position du groupe hydroxyle sur le carbone 1 par rapport au plan de l'anneau.

En effet, le glucose est une énergie carbonique utilisée dans de nombreux processus de fermentation. Les micro-organismes qui participent à la fermentation décomposent le glucose en produits finaux tels que l'éthanol, le dioxyde de carbone et d'autres composés organiques. Dans certains cas, la fermentation utilise le glucose comme seule source de carbone.

Toutefois, il est fréquemment employé en complément d'autres sources de carbone afin de stimuler la prolifération microbienne et d'améliorer les performances de fermentation. Il peut s'agir d'autres sources de carbone telles que le fructose, le saccharose, le lactose, ou de substrats plus complexes tels que la mélasse, les résidus de biomasse lignocellulosique, ou même des déchets organiques.

#### **II.3.3.2 Source des minéraux pour fermentation :**

En plus des minéraux, d'autres additifs peuvent être utilisés pour améliorer la fermentation, tels que :

- **Potassium** : Le potassium est important pour la régulation du pH de la fermentation et pour la production d'acide citrique.
- **Magnésium** : Le magnésium est important pour la croissance du micro-organisme et pour la production d'acide citrique.
- **Fer** : Le fer est important pour la production d'enzymes par le micro-organisme.
- **Vitamines** : Les vitamines B peuvent être ajoutées pour stimuler la croissance du micro-organisme.
- **Acides aminés** : Les acides aminés peuvent être ajoutés pour améliorer la production d'acide citrique.

#### **II.3.4 Précipitation, extraction et purification de l'acide citrique :**

Après fermentation, la purification de l'acide citrique commence par la séparation et isolation de mycélium fongique du milieu de culture par filtration ou centrifugation. La solution résultante est chauffée puis mélangée avec de la chaux (CAO) pour former un précipité de Citrate de Calcium  $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$ . La séparation par filtration et traitement avec de l'acide sulfurique dilué, précipite l'acide citrique et le sulfate de calcium est ensuite éliminé par filtration. La solution d'acide citrique résultante sera décolorée avec du charbon actif et les cristaux sont formés après évaporation. Ces cristaux sont récupérés par centrifugation, puis séchés et emballés [Vandenberghe, Soccol, Pandey et Lebeault.1999].

### **II.4 Utilisations de l'Acide Citrique :**

L'acide citrique est utilisé dans divers domaines à savoir :

#### **II.4.1 Industrie alimentaire :**

- ✓ Comme additif (boissons, confitures, etc.)
- ✓ Dans la fabrication de bonbons, la conservation de fruits et de poissons, glaces, sauces, jus et sirops, etc.

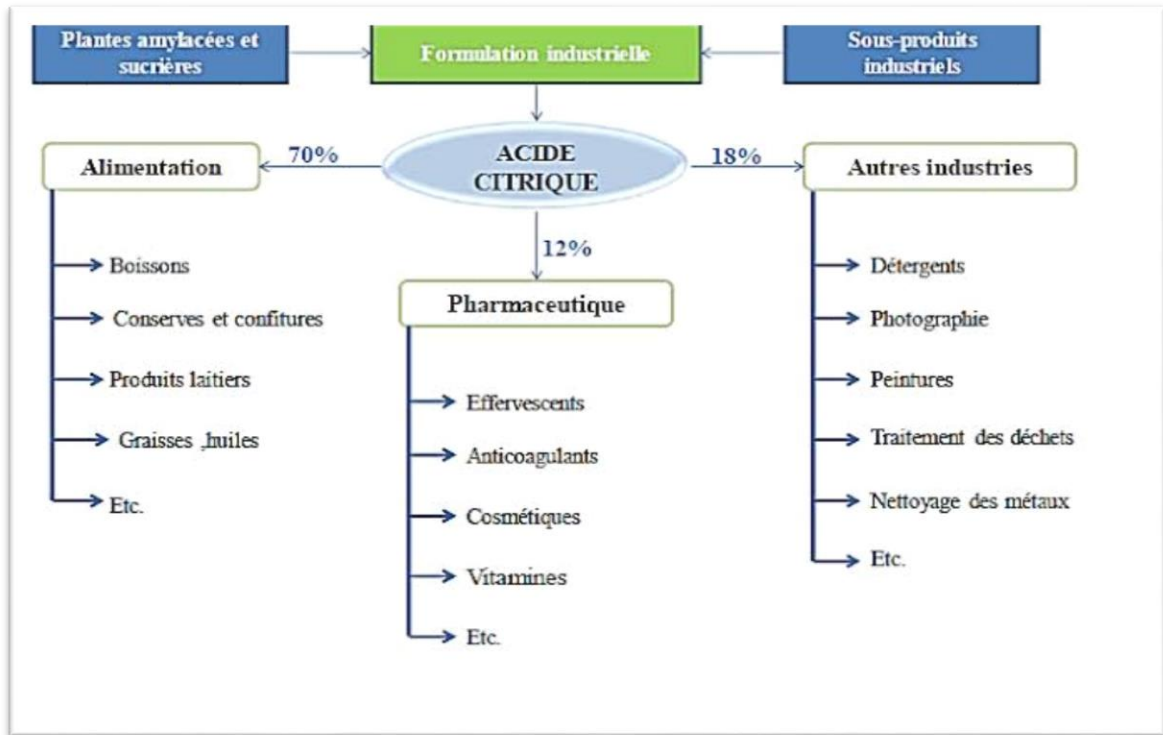
- ✓ Pendant la récolte, comme acidifiant nécessaire
- ✓ Correction de l'acidité lors de l'élaboration des vins
- ✓ Peut être utilisé comme agent de nettoyage pour l'acier inoxydable
- ✓ Dans la purification des métaux en raison de sa capacité chélatrice [Meyer, Deiana et Bernard. 2004] [Agrovin. 2012].

#### **II.4.2 Industrie pharmaceutique :**

- ✓ L'acide citrique favorise indirectement la croissance osseuse en favorisant l'assimilation
- ✓ Utilisé dans le cadre d'une solution d'irrigation de la vessie
- ✓ L'acide citrique et ses sels empêchent la coagulation du sang conservé
- ✓ Utilisé comme liquide d'irrigation pendant le traitement canalaire en médecine dentaire
- ✓ Dans les poudres et comprimés effervescents, l'effet effervescent est obtenu grâce à l'acide citrique et bicarbonate de sodium [Meyer, Deiana et Bernard. 2004].

#### **II.4.3 Autre industrie :**

- ✓ La photographie comme ingrédient dans diverses émulsions de plaques d'impression eau de Javel
- ✓ L'acide citrique est largement utilisé dans les industries du textile, du tabac et du papier et traitement du minerai de fer à faible teneur
- ✓ L'acide citrique est utilisé pour la lixiviation chimique, pour extraire les impuretés des minerais naturels
- ✓ Utilisé dans l'agriculture, les polymères, les composants de lavage de bouteilles, ciment, textiles, etc. [Williams, Cloete. 2010] [Allag, Saoudi. 2021].



**Figure II.3 :** Organigramme de l'utilisation de l'acide citrique

**CHAPITRE III :**

*Matériels, Méthodes et Analyses*



### **III.1 Introduction :**

Ce chapitre comprend une description des équipements, des produits chimiques, des champignons ainsi que les techniques expérimentales utilisés pour la production d'acide citrique. La partie expérimentale a été réalisée dans trois laboratoires de l'Université 8 Mai 1945 Guelma :

- Laboratoire de Génie Chimique, département de Génie des Procédés de la faculté des sciences et de la technologie.
- Laboratoire de biochimie, département de Biologie de la Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre.
- Laboratoire de recherche d'Analyses Industrielles et Génie des Matériaux.

### **III.2 Objective du travail :**

Le but de ce travail est de valoriser deux sous-produits à savoir : les écorces d'agrumes (écorces d'orange et de citron) ainsi que la mélasse (sous-produit de l'industrie sucrière) ; ceci pour produire de l'acide citrique qui est un produit de base intervenant dans plusieurs industries. Le procédé de fabrication est effectué en utilisant la fermentation par le champignon *Aspergillus Niger*. Ce dernier est produit par la biosynthèse des champignons *Aspergillus Niger* à partir d'écorces d'agrumes en milieu nutritif.

Le processus de production d'acide citrique est réalisé selon les étapes suivantes :

- + Collecte et préparation des écorces d'agrumes pour la production de champignons et pour la production d'acide citrique.
- + Préparation du milieu de culture par le mélange des écorces d'agrumes, de la mélasse, des nutriments et de l'eau distillée. Ce mélange est introduit dans un fermenteur sous des conditions appropriées de température, de pH et d'aération.
- + Inoculation du milieu de culture nutritif par *Aspergillus Niger*.
- + Après un temps de fermentation, l'*Aspergillus Niger* est séparé du bouillon de fermentation par filtration.
- + Evaporation pour concentrer le bouillon de fermentation en acide citrique.
- + Cristallisation de l'acide citrique du bouillon concentré.
- + Et enfin, réaliser les analyses chimiques nécessaires afin de confirmer la pureté de l'acide citrique et ses propriétés physico-chimiques.

### III.3 Matériels utilisés :

#### III.3.1 Matériels et produits chimiques :

Les tableaux ci-dessous regroupe la plupart des équipements et les produits chimiques utilisés dans cette étude.

**Tableau III. 1 : Descriptif des Equipement utilisés**

	<b>Equipement</b>	<b>Description</b>
<b>Equipement nécessaire pour la fabrication d'acide citrique</b>	<i>Fermenteur</i>	Utilisé pour la culture et la fermentation en présence de micro-organismes tel que l'Aspergillus Niger. Il fournit un environnement contrôlé pour la croissance et la production de matière. [Vincent, morgant .1988]
	<i>Centrifugeuse</i>	Utilise la force centrifuge pour séparer un mélange en fonction de la densité de ses composants, elle est utilisée pour séparer l'acide citrique du milieu de fermentation.
	<i>Appareil de distillation</i>	Utilisé dans le processus de production d'acide citrique pour séparer les impuretés. [Encyclopædia, Britannica. 2021]
	<i>Cristallisoir</i>	Cristallise les substances, généralement pour obtenir des cristaux purs. Il est utilisé pour la fabrication d'acide citrique sous forme solide.
<b>Equipement nécessaire pour la fabrication d'aspergillus Niger</b>	<i>Autoclave</i>	Pour stériliser le matériel afin d'éliminer les micro-organismes présents sur les équipements. [Encyclopædia, Britannica .2021]
	<i>Microscope</i>	Dans la production d'Aspergillus Niger, la microscopie est utilisée pour observer la croissance et l'évolution des cultures fongiques et sa pureté. [Encyclopædia, Britannica. 2021]

**Tableau III. 2 : Descriptif des produits chimiques utilisés**

<b>Produits chimiques</b>	
<p><b><u>Pour la production de l'Aspergillus Niger :</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Nitrate de sodium (NaNO<sub>3</sub>)</li> <li>- Phosphate dipotassique (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)</li> <li>- Chlorure de potassium (KCL)</li> <li>- Magnesium sulfate heptahydrate (MgSO<sub>4</sub> ,7H<sub>2</sub>O)</li> <li>- Sulfate heptahydrate (FeSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O)</li> <li>- Sulfate de zinc heptahydrate (ZnSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O)</li> <li>- Copper Sulphate Pentahydrate (CuSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O)</li> <li>- Saccharose</li> <li>- Agar</li> <li>- Bleu de méthylène</li> </ul>	<p><b><u>Pour la production l'acide citrique :</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Glucose</li> <li>- NAOH</li> <li>- Sulfate</li> <li>- Ca(OH)<sub>2</sub></li> <li>- CaSo<sub>4</sub></li> </ul>

### **III.4 Méthodes :**

#### **III.4.1 La production d'aspergillus Niger :**

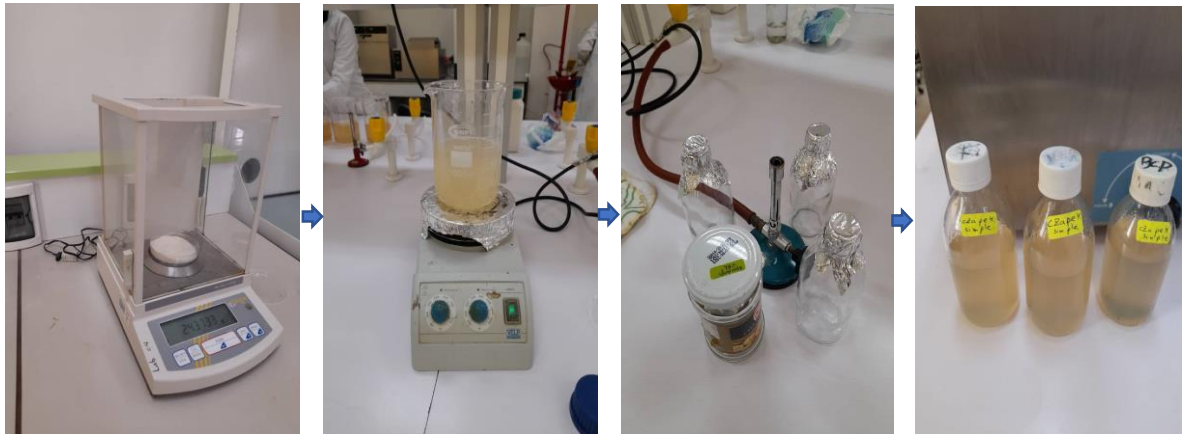
##### **III.4.1.1 Étapes de préparation :**

Lavage et Séchage : Un échantillon d'oranges est nettoyé à l'eau pendant 5 minutes, puis séché avec du papier. Les oranges sont ensuite épluchées. Les écorces sont laissées à l'air libre jusqu'à ce qu'il sèche complètement. Cette étape est nécessaire pour se débarrasser des dépôts externes sur la peau d'orange qui peuvent contaminer de la souche de champignon souhaitée.

Préparer le milieu d'incubation : Dans un bécher en verre de 500 ml, un milieu czapek simple est préparé par les ingrédients mentionné dans le [Tableau III.3], en les mélangeant dans l'eau distillée. Ensuite, le mélange est mis dans un flacon préalablement stérilisé à une température de 180°C. Qui est lui-même mis dans un appareil autoclave pendant 15 min à une température 150°C, afin de réduire une éventuelle contamination du milieu, [Figure III.1]

**Tableau III. 3 :** Ingrédients de milieu czapek simple

NaNO <sub>3</sub>	1g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5g
KCL	0.25g
MgSO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O	0.25g
FeSO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O	0.005g
ZnSO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O	0.0025g
CuSO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O	0.005g
Saccharose	15g
Agar	10g
Eau distillée	500ml



**Figure III. 1 :** Préparation de czapek simple

L'incubation : A proximité d'un Bec Bunsen, dans une zone stérile le milieu est mis dans des boîtes de pétri à une hauteur de 0,5 cm.

L'étape suivante consiste à prélever des morceaux d'écorces d'orange au hasard, et à les placer dans les boîtes de pétri préparées préalablement. Il est nécessaire de stériliser les pinces avec un brûleur à chaque étape.

Enfin, les boîtes de pétri sont incubées pendant 7 jours à une température de 25°C, et sont suivies régulièrement, [Figure III.2]



**Figure III. 2:** Echantillons cultivés dans les milieux

La Purification : Les échantillons sont prélevés après 7 jours d'incubation. En plus d'*Aspergillus Niger* les boîtes de pétri contiennent plusieurs autres espèces de champignons, ceci se produit souvent dans les laboratoires en raison de milieu et de contamination. Une purification continue est ensuite appliquée, celle-ci consiste à prélever des parties des champignons souhaités et à les replanter dans de nouvelles boîtes de pétri contenant le même milieu préalablement approuvé. Cette étape d'incubation est répétée dans les mêmes conditions, afin d'aboutir à une souche pure de champignon *Aspergillus Niger*.

### **III.4.2 Production d'acide citrique :**

#### **III.4.2.1 Étapes de préparation des écorces d'agrumes :**

Lavage : Le lavage se fait à l'eau de robinet. Il permet de débarrasser les écorces d'agrumes des poussières, du sable et diminue éventuellement la charge microbienne. Le lavage est une opération nécessaire pour obtenir un produit de qualité hygiénique relative, [Figure III.3].



**Figure III. 3 :** Lavage des écorces d'agrumes

Séchage : Les écorces sont séchées avec un papier essuie-tout, et coupées en fines tranches. Ensuite, les pelures sont réparties sur un plateau recouvert de papier sulfurisé qui est placé dans

un endroit sec, aéré et ensoleillé, à l'abri de la poussière. Les peaux sont régulièrement retournées de temps en temps pour assurer un séchage homogène. Le temps de séchage dépend de l'épaisseur de l'écorce, de l'humidité ambiante et de la circulation de l'air. L'écorce est considérée sèche lorsqu'elle est cassante et friable, [Figure III.4].



**Figure III. 4 :** Séchage des écorces d'agrumes

Broyage : Les écorces séchées sont broyées avec un mortier et un pilon jusqu'à ce qu'on obtienne une poudre fine [Figure III.5]. Il est essentiel de passer par cette étape pour diminuer la surface de contact entre la poudre d'agrumes et les champignons, ce qui accélère la fermentation.



**Figure III. 5 :** Broyage des écorces d'agrumes

Tamisage : La poudre d'écorces d'agrumes est filtrée à l'aide d'un tamis de 0,5 mm afin de supprimer les particules les plus grosses. Cela favorisera une uniformité de granulométrie et améliorera l'extraction de l'acide citrique [Figure III.6].



**Figure III. 6 :** Tamisage des écorces d'agrumes

Stérilisation : Les écorces d'agrumes est stérilisées en la chauffant à haute température (120-130°C) pour éliminer les micro-organismes contaminants.

#### III.4.2.2 Étapes de préparation de la mélasse

La mélasse est un sous-produit couramment utilisé dans la production d'acide citrique par fermentation en utilisant l'Aspergillus Niger. Cependant, en raison de sa nature complexe et variable, la mélasse nécessite un prétraitement pour la rendre apte à la fermentation. Les traitements courants comprennent :

Dilution :

- La mélasse étant visqueuse et concentrée, elle peut entraver la croissance du champignon Aspergillus Niger. Elle doit être diluer avec de l'eau pour réduire la viscosité et faciliter le transfert des nutriments et de l'oxygène aux micro-organismes.
- La concentration optimale de mélasse pour la souche Aspergillus Niger et les conditions de fermentation est entre 10 et 20 % (p/v), [Figure III.7].



**Figure III. 7 :** Mélasse liquide, poudre dilué et liquide dilué (de gauche à droite)

### Ajustement du pH :

- Le pH optimal pour la croissance d'*Aspergillus Niger* et la production d'acide citrique est entre 2 à 5. La mélasse à un pH naturellement alcalin (environ 6-7), il est donc nécessaire de l'acidifier avant la fermentation, [Figure III.8].
- L'acide sulfurique ou l'acide phosphorique est utilisé pour ajuster le pH. Un contrôle minutieux du pH est essentiel car il affecte la viabilité d'*Aspergillus Niger*, la production d'acide citrique et la formation de produits secondaires indésirables.



**Figure III. 8 :** Mesure de pH de La mélasse

### Clarification :

- La mélasse contient des impuretés solides telles que des particules de bagasse, des sels inorganiques et des composés macromoléculaires. Ces impuretés perturbent le processus de fermentation et réduisent la qualité de l'acide citrique produit.
- La clarification de la mélasse est faite par filtration, centrifugation ou sédimentation. La méthode choisie dans le présent travail est la filtration, [Figure III.9].



**Figure III. 9 :** Filtration de la mélasse



Stérilisation :

- La mélasse est stérilisée en la chauffant à haute température (120-130°C) pour éliminer les micro-organismes contaminants et assurer un environnement de fermentation propre.

**III.4.2.3 Montage d'un fermenteur au niveau du laboratoire :**

Pour la confection d'un fermenteur au niveau du laboratoire, pour contenir le milieu de culture et la souche d'*Aspergillus Niger*, les équipements cités ci-dessous sont utilisés.

Équipements :

- Récipient en verre de 10 litres
- Bouchon en caoutchouc percé de deux trous
- Filtre
- Tuyau d'aération
- Barreau d'agitation
- Filtre d'air
- Thermomètre
- PH mètre
- Agitateur
- Pompe à air
- Plaque chauffante électrique.

Remarques :

- ✓ L'agitateur : Assure l'homogénéité du milieu et l'apport d'oxygène nécessaire à la croissance du champignon.
- ✓ Le système d'aération : Fournit l'air stérile nécessaire à la respiration du champignon.
- ✓ Le système de contrôle de la température : Maintient la température optimale pour la fermentation (entre 25 et 30°C).

**III.4.2.4 Etapes de préparation d'un milieu de culture :**

Afin de mener à bien les expériences de fermentation le milieu de culture doit passer par plusieurs étapes, à savoir [Figure III.10] :



**Figure III. 10 :** Préparation du milieu de culture

- a. Stérilisation du milieu de cultures :** Le milieu de culture est chauffé à 120°C pendant 15 minutes dans une étuve.
- b. Préparation du fermenteur :**
  - Le récipient, le bouchon, le thermomètre, le tuyau et le filtre d'air sont tous stérilisés.
  - Le récipient est rempli avec le milieu de culture jusqu'à environ 20 % de sa capacité.
  - Le thermomètre est inséré avec le tuyau d'aération à travers le bouchon.
  - Le filtre à air est aussi fixé à l'extrémité du tuyau d'aération.
- c. Ensemencement du milieu de culture :**
  - Une suspension de spores d'*Aspergillus Niger* est ajoutée au milieu de culture refroidi.
  - La quantité de spores à ajouter dépend de la concentration de la suspension et du volume du milieu de culture.
- d. Incubation :**
  - Le fermenteur est placé dans un endroit à température constante.
  - La pompe à air est connectée au tuyau d'aération en la maintenant à un débit d'air stérile constant.
  - Le milieu de culture est agité avec un agitateur magnétique.
  - La température et le pH du milieu de culture sont surveillés pendant l'incubation, [Figure III.11].



**Figure III. 11 : Banc expérimental**

**e. Récolte de l'acide citrique :**

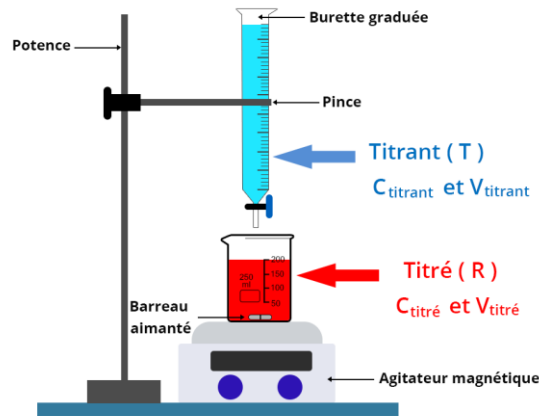
- Après 7 à 10 jours d'incubation, l'acide citrique est produit par le champignon *Aspergillus Niger*
- Le milieu de culture est filtré pour séparer les cellules d'*Aspergillus Niger* du bouillon de fermentation
- Le filtrat est concentré par évaporation sous vide
- L'acide citrique est cristallisé.

### **III.5 Les Analyses :**

#### **III.5.1 Analyse de l'acide citrique par titrimétrie :**

L'analyse par titrimétrie est une technique couramment utilisée pour déterminer la concentration d'acide citrique dans une solution. Cette méthode se base sur la réaction de neutralisation de l'acide citrique par une base forte, telle que l'hydroxyde de sodium (NaOH). La quantité de base nécessaire pour neutraliser complètement l'acide citrique dans l'échantillon est proportionnel à sa concentration.

Le titrant est placé dans une burette graduée de précision surmontant un bécher contenant un volume précis  $V_{\text{titré}}$  du soluté titré dont on souhaite déterminer la concentration  $C_{\text{titré}}$  [Figure III.12].



**Figure III. 12 :** schéma de titrage (ou la titrimétrie)

Avantages de cette technique :

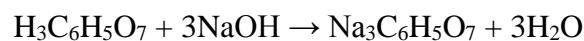
- ✓ Méthode simple, rapide et peu coûteuse
- ✓ Ne nécessite pas d'équipement spécialisé
- ✓ Bonne précision et exactitude.

Inconvénients de cette technique :

- ✓ Nécessite une certaine expertise pour la manipulation des solutions et la réalisation de titrage
- ✓ Sensible aux erreurs de mesure de volume
- ✓ Interférences possibles dues à la présence d'autres acides dans l'échantillon.

Principe de la titrimétrie :

- ✚ Réaction de neutralisation : L'acide citrique ( $H_3C_6H_5O_7$ ) réagit avec l'hydroxyde de sodium (NaOH) selon l'équation suivante :



- ✚ Détermination du point d'équivalence : Le point d'équivalence est atteint lorsque toutes les moles d'acide citrique ont été neutralisées par les moles de base. Ce point est généralement déterminé à l'aide d'un indicateur coloré, tel que la phénolphaléine, ce qui change la couleur de l'échantillon en rose.
- ✚ Calcul de la concentration d'acide citrique : La concentration d'acide citrique dans l'échantillon est calculée à partir du volume de base consommé pour atteindre le point d'équivalence, de la concentration de la solution de base et de la masse molaire de l'acide citrique.

**Protocole expérimental :**

➤ **Matériel :**

- Burette
- Pipettes
- Erlenmeyers
- Indicateur coloré (phénolphthaléine)
- Echantillon du milieu d'un volume de 20 ml
- Solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) de concentration 0.1 mol/l et volume de 25 ml
- Eau distillée.

➤ **Étapes :**

**a. Préparation des solutions :**

- Un échantillon de 20 ml est prélevé du milieu de fermentation
- Un erlenmeyer est rempli avec 25 ml de solution d'Hydroxyde de Sodium (NaOH) et d'eau distillée jusqu'à 250 ml
- Une burette remplie avec la solution d'erlenmeyers.

**b. Titrage :**

- Un volume de 20 ml de solution d'acide citrique est mis dans un bécher
- Quelques gouttes d'indicateur phénolphthaléine sont ajoutées à la solution
- Le robinet de la burette est ouvert, versant lentement la solution d'hydroxyde de sodium dans le bécher qui est agité continuellement
- Le titrage est arrêté lorsque la solution vire au rose, indiquant le point d'équivalence, [Figure III.13].



**Figure III. 13 : Protocole expérimental de titrage**

➤ **Calculs de la concentration d'acide citrique :**

- Calculer Le volume de solution d'hydroxyde de sodium NaOH consommé :  $V$
- Calculer la concentration d'acide citrique dans l'échantillon ( $C$  d'acide citrique) à l'aide de la formule suivante :

$$C_{\text{(acide citrique)}} * V_{\text{(acide citrique)}} = C_{\text{(NaOH)}} * V_{\text{(NaOH)}}$$

Où :

- $C_{\text{(NaOH)}}$  est la concentration de la solution d'hydroxyde de sodium
- $V_{\text{(NaOH)}}$  est le volume de solution d'hydroxyde de sodium consommé
- $V_{\text{(acide citrique)}}$  est le volume de la solution d'acide citrique titrée
- $C_{\text{(acide citrique)}}$  est la concentration de la solution d'acide citrique titrée.

Donc la valeur de la concentration en mole par litre est :

$$C_{\text{(acide citrique)}} = C_{\text{(NaOH)}} * V_{\text{(NaOH)}} / V_{\text{(acide citrique)}}$$

Et en g/L, en prenant la masse molaire de l'acide citrique ( $C_6H_8O_7$ ) égale à 192,123 g/mol :

$$\text{Concentration en g/L} = \text{Concentration en mol/L} * 192,123 \text{ g/mol}$$

### III.5.2. Analyse des produits de substrat par infrarouge (IR) :

L'infrarouge est une technique d'analyse non destructive qui peut être utilisée pour mesurer la composition des écorces d'agrumes et de la mélasse.

#### Avantages de l'utilisation de l'infrarouge :

- ✓ **Non destructive** : L'infrarouge est une technique non destructive, ce qui signifie que l'échantillon des écorces d'agrumes et de la mélasse n'a pas besoin d'être détruit pour l'analyse.
- ✓ **Rapide et facile** : La mesure infrarouge est une technique rapide et facile à utiliser. Les résultats peuvent être obtenus en quelques minutes.
- ✓ **Précise** : L'infrarouge est une technique précise qui peut fournir des mesures quantitatives de la composition de l'échantillon.
- ✓ **Polyvalente** : L'infrarouge peut être utilisé pour mesurer une large gamme de composés de l'échantillon, y compris les sucres, les acides aminés, les vitamines et les minéraux.

Les écorces d'agrumes sont riches en huiles essentielles, fibres et composés antioxydants, ce qui contribue à sa capacité à absorber le rayonnement infrarouge (IR).

La mélasse est riche en sucres et en autres composés organiques. Ces composés absorbent la lumière infrarouge à différentes longueurs d'onde, ce qui permet de les identifier.

#### III.5.2.1 Analyse chimique par infrarouge des écorces d'agrumes et de la mélasse de canne à sucre

Dans le cas de la production d'acide citrique à partir de la mélasse et des écorces d'agrumes, la mesure infrarouge de la mélasse est utilisée pour :

- ✓ **Contrôler la qualité** : La composition des écorces d'agrumes et de la mélasse peuvent varier en fonction de la source et du processus de production. La mesure infrarouge peut être utilisée pour identifier et quantifier les impuretés présentes dans la mélasse et les écorces d'agrumes, telles que les métaux lourds et les pesticides. Cela garantit qu'il est de qualité suffisante pour être utilisé dans la production d'acide citrique.
- ✓ **Suivre la progression de la fermentation** : L'*Aspergillus Niger* est un champignon qui est utilisé pour fermenter les sucres des écorces d'agrumes et de la mélasse pour produire l'acide citrique. La mesure infrarouge peut être utilisée pour suivre la progression de la fermentation en mesurant la concentration des sucres et de l'acide citrique dans les écorces d'agrumes et la

mélasse. Cela permet de s'assurer que la fermentation se déroule correctement et que la production d'acide citrique est maximisée.

- ✓ **Optimiser le processus de production** : La mesure infrarouge peut être utilisée pour optimiser le processus de production d'acide citrique en identifiant les facteurs qui affectent la production d'acide citrique, tels que la température, le pH et la concentration des nutriments. Cela permet de maximiser la production d'acide citrique et de réduire les coûts de production.

### III.5.2.2 Méthode de mesure :

#### ✚ Matériel :

- Spectromètre infrarouge
- Cuvettes infrarouges
- Broyeur
- Mélangeur.

#### ✚ Réactifs :

- KBR

#### ✚ Étapes :

##### ▪ *Préparation de l'échantillon des écorces d'agrumes :*

- Broyer les écorces d'agrumes et le KBR dans un mortier jusqu'à obtenir une poudre fine.
- Ensuite on met la poudre dans la pastilleuse de laboratoire (compressée à 10 tonnes) pour obtenir une pastille.

##### ▪ *Préparation de l'échantillon de mélasse (Poudre) :*

- Broyer la mélasse et le KBR dans un mortier jusqu'à obtenir une poudre fine.
- Ensuite la poudre est mise dans la pastilleuse (puis compressée à 10 tonnes) pour obtenir une pastille.

##### ▪ *Préparation de l'échantillon de mélasse (Miel) :*

- Broyer le KBR dans un mortier jusqu'à obtenir une poudre fine.
- Une fois la pastille préparée, la mélasse est mise sur le comprimé puis séchée car la mélasse contient de l'eau.



- **Mesure d'infrarouge :**

- La pastille est mise dans le support puis placée dans le spectromètre infrarouge qui enregistre les spectres infrarouges sur une gamme de longueurs d'onde de  $4000\text{ cm}^{-1}$  à  $400\text{ cm}^{-1}$ .

### **III.5.3 Mesurer la quantité de sucre dans une solution :**

#### **III.5.3.1 Réfractomètre :**

Un réfractomètre est un appareil utilisé pour mesurer l'indice de réfraction d'une substance. L'indice de réfraction est une mesure de la façon dont la lumière se courbe lorsqu'elle traverse une substance. Plus l'indice de réfraction d'une substance est élevé, plus la lumière se courbe. Dans le cas des solutions sucrées, l'indice de réfraction est directement lié à la concentration en sucre. Plus la concentration en sucre est élevée, plus l'indice de réfraction est élevé. C'est pourquoi les réfractomètres peuvent être utilisés pour mesurer rapidement et facilement la quantité de sucre dans une solution [Figure III.14].



**Figure III. 14 : Réfractomètre**

- **Principe :**

Un réfractomètre mesure l'indice de réfraction de la solution, qui est lié à la concentration en sucre.

- **Avantage :**

- ✓ Rapide et simple à utiliser
- ✓ Relativement précis pour les solutions sucrées simples.

- **Inconvénients :**

- ✓ Ne permet pas de différencier les différents types de sucres
- ✓ Peut être sensible à la température et à la présence d'autres solutés.

### III.5.4 Mesure la concentration en oxygène :

#### III.5.4.1 Sondes à oxygène :

Les sondes à oxygène sont utilisées pour mesurer la façon dont la concentration en oxygène du milieu change dans le temps et dans l'espace, et comment cela affecte les organismes vivants, [Figure III.15].



Figure III. 15 : Sondes à oxygène

### III.5.4 Mesure des propriétés rhéologiques :

#### III.5.4.1 Rhéomètre :

Un rhéomètre est un appareil capable d'étudier la déformation et l'écoulement des fluides et des matières soumises à des contraintes extérieures. Il permet d'étudier fondamentalement les caractéristiques d'écoulement des liquides, des suspensions, de pâtes, etc. L'appareil utilisé est un rhéomètre CVO Bohlin qui est composé de [Figure III.16] :

- **Compresseur** : un dispositif électrique qui sert à comprimer l'air.
- **Régulateur** : un instrument pour contrôler la température.
- **Micro-ordinateur** : utilisé pour contrôler et exécuter le logiciel fourni avec l'appareil.

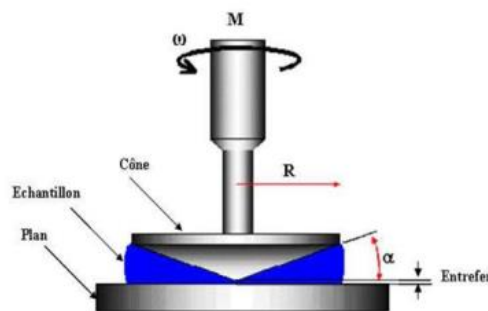


**Figure III. 16 : Rhéomètre**

### III.5.4.2 Principe de mesure :

Un rhéomètre est un appareil permettant de mesurer les propriétés rhéologiques des matériaux. Un rhéomètre est capable de mesurer la viscosité et l'élasticité de matériaux non newtoniens dans des conditions variées [Figure III.17] [Brookfield RS-CPS+ Rhéomètre].

Afin de garantir la qualité des matières premières, d'obtenir les résultats attendus et d'éviter les problèmes de processus, la viscosité des matériaux a été mesurée à l'aide d'un rhéomètre. Durant le processus de fermentation il faut s'assurer que la viscosité soit comprise entre 0,5 et 1 Pa.s, ce qui est essentiel à la réussite de l'expérience.



**Figure III. 17 : Principe de rhéomètre dynamique à cône**

### III.5.5 Mesure des métaux lourds :

#### III.5.5.1 Les métaux lourds recherchés :

Les métaux lourds recherchés dans le présent travail et qui sont considérés comme des indicateurs de pollution sont le Cadmium, le Chrome et le Cuivre. Les analyses sont effectuées à l'aide d'un Spectromètre d'Absorption Atomique à flamme air/acétylène type Perkin-Elmer, modèle PinAAcle 900T couplé à un logiciel WinLab-32, [Figure III.18].



**Figure III. 18 :** Spectromètre d'absorption atomique PINAACLE 900T

### **III.5.5.2 Principe de la méthode de spectrométrie d'absorption atomique à flamme**

L'absorption atomique est un processus qui se produit lorsque les atomes qui sont l'état fondamental passe à l'état excités, en absorbant de l'énergie par rayonnement électromagnétique correspondant à une longueur d'onde spécifique [Bendada et Brahladeshi. 2011]

#### ✓ **Appareillage**

Les instruments de base pour la spectrométrie d'absorption atomique comportent quatre parties principales : [Bendada et Boulakradeche. 2011]

- Le faisceau lumineux issu de la source.
- La chambre d'absorption (flamme ou four) dans laquelle l'élément se trouve porté à l'état atomique.
- Monochromateur qui sélectionne un intervalle très étroit de longueurs d'onde.
- Détecteur.

**Chapitre IV**

**Résultat et Discussions**

## IV.1 Introduction

Ce chapitre est consacré à la présentation des résultats des diverses analyses obtenues lors de la production de l'acide citrique par *Aspergillus Niger*. Ceux-ci concernent :

- Les matières premières (substrat) : Sucre, pH, Absorption Atomique et Infrarouge
- Le champignon : Lecture macroscopique et microscopique
- Le milieu de culture : Sucre, pH, concentration d'acide citrique, oxygène dissous et viscosité
- L'acide citrique obtenu : pH, sucre et concentration.

Ces résultats sont ensuite analysés et discutés.

## IV.2 Les matières premières (substrat) :

### IV.2.1 Les écorces d'agrumes :

Une quantité de fruits d'orange et de citron est cueilli à partir de différentes régions de l'est Algérien. Avant d'être utilisés, ces fruits ont été traités à plusieurs reprises, en commençant par un lavage puis en les pelant avec des outils stériles et ensuite séchés à l'air libre pendant une semaine. Après, un broyage et tamisage à l'aide d'un tamis de 0,5 mm de diamètre, les écorces d'agrumes ont subi une stérilisation dans une étuve à 120°C pendant une durée de 15 minutes. Finalement, une quantité d'1 kg d'écorces d'agrumes séché a été récupéré, et les mesures de leur taux de sucre et de pH ont donné des valeurs de 26 % et 5,5 respectivement. Quant aux résultats de quantité de métaux lourds mesurée par spectromètre d'absorption atomique, indiquent l'absence des métaux lourds à savoir le Cuivre et le cadmium, par contre ils indiquent la présence de Chrome, [Figure IV.1]. Les limites de la norme pour ces métaux dans les écorces d'agrumes sont les suivantes :

- ✓ **Cuivre (Cu):** 0,005 - 0,01 mg/l; [FAO/WHO, 1995]
- ✓ **Cadmium (Cd):** 0,0005 - 0,001 mg/l; [EFSA, 2011]
- ✓ **Chrome (Cr):** 0,01 - 0,02 mg; [EPA, 1994]

Le résultat obtenu indique que les écorces d'agrumes ne sont pas contaminées par les métaux lourds testés (Cuivre et Cadmium) , et que la contamination par Chrome est faible et qu'elle est négligeable et non préoccupante, donc ces écorces respectent les normes.

Sequence No.: 31  
Sample ID: eco  
Analyst:

Autosampler Location:  
Date Collected: 10/07/2007 01:46:28  
Data Type: Original

Replicate Data: eco

Analyte: Cu 324,75

Repl #	SampleConc mg/L	StndConc mg/L	Blncorr Signal	Time	Signal Stored
1	-0,019	-0,019	-0,002	01:46:29	Yes
2	-0,018	-0,018	-0,002	01:46:33	Yes
3	-0,012	-0,012	-0,001	01:46:38	Yes
Mean:	-0,016	-0,016	-0,002		
SD:	0,0039	0,0039	0,0005		
%RSD:	24,32%	24,32%	24,32		

Replicate Data: eco

Analyte: Cr 357,87

Repl #	SampleConc mg/L	StndConc mg/L	Blncorr Signal	Time	Signal Stored
--------	-----------------	---------------	----------------	------	---------------

Method: Cr Master 2024

Page 12

Date: 10/07/2007 05:24:13

1	0,049	0,049	0,003	05:08:18	Yes
2	0,055	0,055	0,003	05:08:22	Yes
3	0,058	0,058	0,003	05:08:27	Yes
Mean:	0,054	0,054	0,003		
SD:	0,0047	0,0047	0,0002		
%RSD:	8,62%	8,62%	8,62		

Sequence No.: 11  
Sample ID: Ech Eco 1  
Analyst:

Autosampler Location:  
Date Collected: 10/07/2007 00:43:09  
Data Type: Original

Replicate Data: Ech Eco 1

Analyte: Cd 228,80

Method: Cd Master 2024

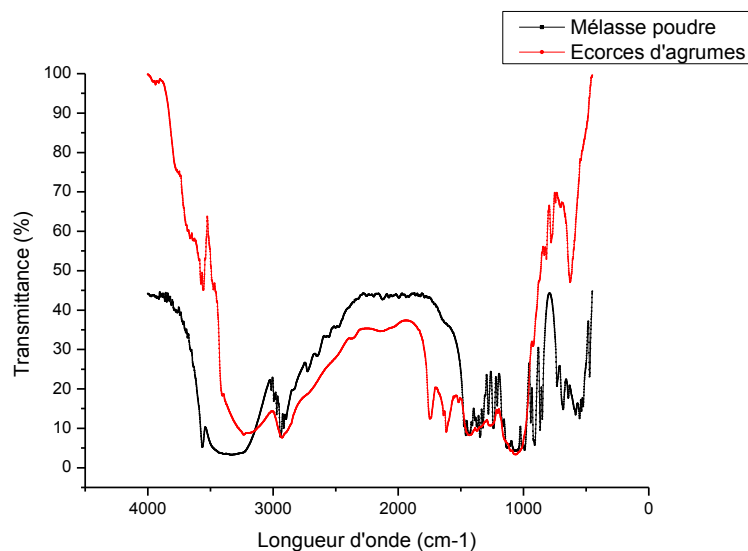
Page 4

Date: 10/07/2007 01:01:27

Repl #	SampleConc mg/L	StndConc mg/L	Blncorr Signal	Time	Signal Stored
1	-0,084	-0,084	-0,020	00:43:11	No
2	-0,072	-0,072	-0,017	00:43:15	No
3	-0,065	-0,065	-0,015	00:43:19	No
Mean:	-0,074	-0,074	-0,018		
SD:	0,0097	0,0097	0,0023		
%RSD:	13,19%	13,19%	13,19		

**Figure IV.1** : Résultats de quantité de métaux lourds mesurée par spectromètre d'absorption atomique

Les analyses par spectroscopie infrarouge (IR) donnent des informations sur la composition chimique des écorces ainsi que les principaux groupes fonctionnels, [Figure IV.2]



**Figure IV.2 :** Infrarouge des écorces d'agrumes et mélasse poudre

Ces résultats montrent que :

- *Région des hydroxyles (3200-3600  $cm^{-1}$ )* : L'existence d'une large bande d'absorption dans cette région indique la présence de nombreux groupes hydroxyles - OH -, présents dans les flavonoïdes, les acides phénoliques et les sucres des écorces d'agrumes.
- *Région des carbonyles (1600-1700  $cm^{-1}$ )* : La bande d'absorption dans cette région indique la présence de groupes C=O des acides organiques, des esters et des flavonoïdes.
- *Région des C-H aliphatiques (2800-2900  $cm^{-1}$ )* : Les bandes d'absorption dans cette région indiquent la présence des composés terpéniques se trouvant dans les huiles essentielles
- *Région des C-O (1000-1300  $cm^{-1}$ )* : Les bandes d'absorption dans cette région indiquent la présence aux éthers des polysaccharides et aux esters dans les huiles essentielles [Wang, Y, et Chen, S. 2019].

L'analyse infrarouge des écorces d'agrumes révèle une composition riche en composés phénoliques et en flavonoïdes, en plus des polysaccharides et des pectines. Ces groupes suggèrent que ces écorces renferment des substances utiles et complémentaires à la fermentation, en fournissant des nutriments supplémentaires et des composés phénoliques antimicrobiens, ce qui a un impact et une amélioration de la pureté du l'acide citrique.



#### IV.2.2 La mélasse

La mélasse a été obtenue de l'usine « *Sorasucre* », une société de raffinage de sucre de Guelma (Algérie). Les mélasses sous forme de poudre et de miel contiennent 58% et 62,4% de sucres totaux, respectivement.

La mélasse a subi un traitement avant son utilisation. En premier lieu, la mélasse a été diluée afin d'avoir un pourcentage de sucre qu'elle contient autour de 20%, soit la quantité nécessaire au milieu de fermentation. Ensuite, le pH doit lui aussi maintenu entre 2 et 5. Après dilution une opération de plusieurs filtrations est nécessaire pour séparer les impuretés de la solution de mélasse. Enfin, les échantillons obtenus sont stérilisés dans une étuve à température égale 120°C pendant 15 min et conservés jusqu'à l'utilisation.

L'analyse de la mélasse en poudre et miel par spectroscopie d'absorption atomique (AAS) permet de déterminer la concentration de différents métaux présents dans ces deux substances.

Dans les deux formes de la mélasse il y a présence de Cuivre, par contre pour le Chrome et le Cadmium ils sont présents que dans la mélasse miel uniquement, [Figure IV.3], [Figure IV.4], [Figure IV.5]

Les limites norme pour ces métaux dans les écorces d'agrumes sont les suivantes :

- ✓ **Cuivre (Cu)** : 2 - 10 mg/L
- ✓ **Cadmium (Cd)** : 0,05 - 0,1 mg/L
- ✓ **Chrome (Cr)** : 0,1 - 2 mg/L

En comparant les résultats obtenus avec la quantité autorisée dans la mélasse, nous concluons de sorte que la quantité d'impuretés (métaux lourds) susceptibles d'entraver la fermentation est très faible et n'affecte pas le milieu.

Replicate Data: Mp				Analyte: Cd 228,80	
Repl	SampleConc	StndConc	Blncorr	Time	Signal
#	mg/L	mg/L	Signal		Stored
1	-0,007	-0,007	-0,002	00:44:11	No
2	-0,006	-0,006	-0,001	00:44:15	No
3	0,003	0,003	0,001	00:44:20	No
Mean:	-0,003	-0,003	-0,001		
SD:	0,0052	0,0052	0,0012		
%RSD:	154,64%	154,64%	154,64		

Sequence No.: 13		Autosampler Location:	
Sample ID: MM		Date Collected: 10/07/2007 00:45:14	
Analyst:		Data Type: Original	

Replicate Data: MM				Analyte: Cd 228,80	
Repl	SampleConc	StndConc	Blncorr	Time	Signal
#	mg/L	mg/L	Signal		Stored
1	0,017	0,017	0,004	00:45:15	No
2	0,024	0,024	0,006	00:45:19	No
3	0,022	0,022	0,005	00:45:24	No
Mean:	0,021	0,021	0,005		
SD:	0,0037	0,0037	0,0009		
%RSD:	17,64%	17,64%	17,64		

**Figure IV.3** : Résultat de quantité de Cadmium mesurée par spectromètre d'absorption atomique

```

Sequence No.: 29
Sample ID: mp
Analyst:
Autosampler Location:
Date Collected: 10/07/2007 01:45:10
Data Type: Original

```

```

-----
Replicate Data: mp
Repl SampleConc StndConc BlnkCorr Time Analyte: Cu 324,75
# mg/L mg/L Signal Signal Stored
1 0,052 0,052 0,006 01:45:11 Yes
2 0,043 0,043 0,005 01:45:15 Yes
3 0,061 0,061 0,007 01:45:20 Yes
Mean: 0,052 0,052 0,006
SD: 0,0092 0,0092 0,0011
%RSD: 17,57% 17,57% 17,57

```

```

-----
Sequence No.: 30
Sample ID: mm
Analyst:
Autosampler Location:
Date Collected: 10/07/2007 01:45:49
Data Type: Original

```

```

-----
Replicate Data: mm
Repl SampleConc StndConc BlnkCorr Time Analyte: Cu 324,75
# mg/L mg/L Signal Signal Stored
1 0,171 0,171 0,021 01:45:50 Yes
2 0,159 0,159 0,019 01:45:54 Yes
3 0,164 0,164 0,020 01:45:59 Yes
Mean: 0,165 0,165 0,020
SD: 0,0059 0,0059 0,0007
%RSD: 3,56% 3,56% 3,56

```

**Figure IV.4** : Résultat de quantité de Cuivre mesurée par spectromètre d'absorption atomique

```

-----
Sequence No.: 31
Sample ID: mp
Analyst:
Autosampler Location:
Date Collected: 10/07/2007 05:09:11
Data Type: Original

```

```

-----
Replicate Data: mp
Repl SampleConc StndConc BlnkCorr Time Analyte: Cr 357,87
# mg/L mg/L Signal Signal Stored
1 -0,007 -0,007 -0,000 05:09:12 Yes
2 -0,031 -0,031 -0,002 05:09:16 Yes
3 -0,014 -0,014 -0,001 05:09:21 Yes
Mean: -0,017 -0,017 -0,001
SD: 0,0122 0,0122 0,0006
%RSD: 70,69% 70,69% 70,69

```

```

-----
Sequence No.: 32
Sample ID: mm
Analyst:
Autosampler Location:
Date Collected: 10/07/2007 05:10:03
Data Type: Original

```

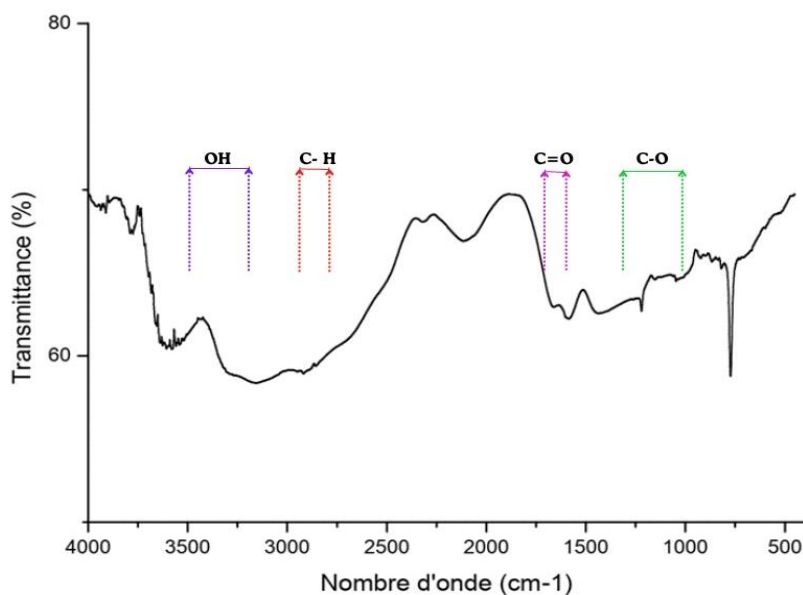
```

-----
Replicate Data: mm
Repl SampleConc StndConc BlnkCorr Time Analyte: Cr 357,87
# mg/L mg/L Signal Signal Stored
1 0,193 0,193 0,010 05:10:04 Yes
2 0,174 0,174 0,009 05:10:08 Yes
3 0,174 0,174 0,009 05:10:13 Yes
Mean: 0,181 0,181 0,009
SD: 0,0110 0,0110 0,0006
%RSD: 6,09% 6,09% 6,09

```

**Figure IV.5** : Résultat de quantité de Chrome mesurée par spectromètre d'absorption atomique

D'autre part, le spectre infrarouge (IR) de la mélasse est caractérisé par une large bande d'absorption dans la région des hydroxyles ( $3200-3500\text{cm}^{-1}$ ) due aux groupes OH des sucres et d'autres composés organiques présents dans la mélasse. On observe également une absorption dans les régions des C- H aliphatiques ( $2800-2900\text{ cm}^{-1}$ ) et des C-O ( $1000-300\text{ cm}^{-1}$ ) ; [Figure IV.2] et [Figure IV.6] de mélasse poudre et miel respectivement.



**Figure IV.6:** Infrarouge de mélasse miel

➤ *Région des hydroxyles ( $3200-3500\text{ cm}^{-1}$ )* : Une large bande d'absorption dans cette région indique la présence de nombreux groupes -OH qui proviennent des sucres (glucose, fructose et saccharose) ainsi que d'autres composés organiques.

➤ *Région des carbonyles ( $1600-1700\text{ cm}^{-1}$ )* : La bande d'absorption dans cette région indique la présence de groupes C=O des sucres, des acides carboxyliques et d'autres composés organiques.

➤ *Région des C-H aliphatiques ( $2800-2900\text{ cm}^{-1}$ )* : Les bandes d'absorption dans cette région indiquent la présence de groupes C-H aliphatiques provenant des sucres, des acides aminés et d'autres composés organiques.

➤ *Région des C-O ( $1000-1300\text{ cm}^{-1}$ )* : Les bandes d'absorption dans cette région indiquent la présence des liaisons C-O des sucres, des acides carboxyliques et d'autres composés éthyliques [Wang, L, Li, Y & Zhang, L. 2014].

Ces analyses indiquent que les deux types de mélasse (poudre et miel) contiennent des groupes d'hydroxyles et de carbonyles, indiquant ainsi il s'agit de composés riches en sucres. De ce fait la mélasse est une matière première adaptée au processus de fermentation, car elle fournit une source de carbone et de nutriments nécessaires aux micro-organismes producteurs d'acide citrique (l'Aspergillus Niger).

### **IV.3 Le champignon Aspergillus Niger :**

Les champignons d'Aspergillus Niger produits sont identifiés par deux méthodes macroscopique et microscopique.

#### **IV.3.1. Identification macroscopique :**

- ✓ L'aspect des colonies : Est une caractéristique importante qui guide le diagnostic du champignon, la forme des colonies est cotonneuses, veloutées et laineuses.
- ✓ Le relief des colonies : Les colonies ont un aspect plat et une consistance envahissante variable (molle et friable).
- ✓ Diamètre : Les colonies ont atteint 7-9 cm de diamètre en 14 jours.
- ✓ La couleur des colonies : Les colonies initialement blanches, deviennent jaunes, brunes et finalement noires ; couleur commune d'Aspergillus Niger [Figure IV.7].

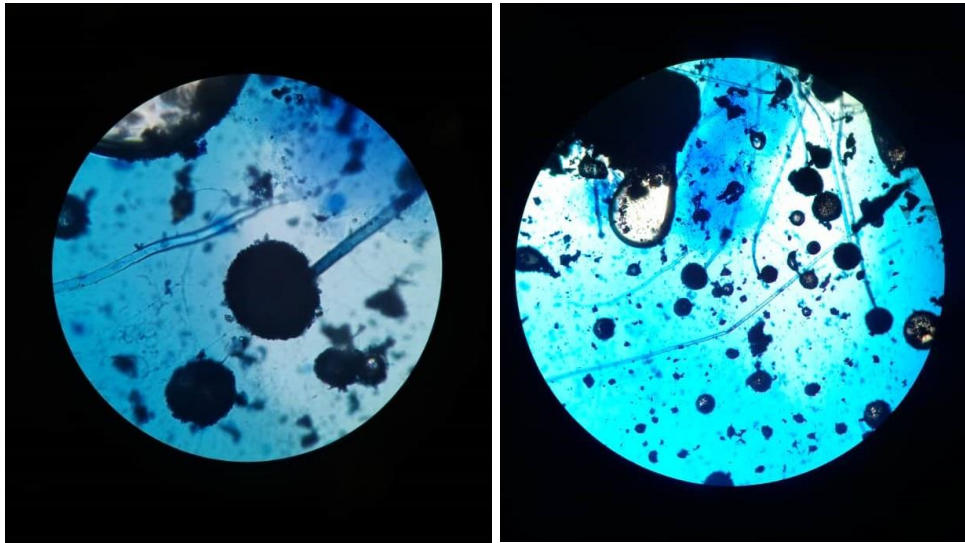


**Figure IV.7:** Aspergillus Niger dans czapek simple

#### IV.2.2. Identification microscopique :

La lecture microscopique est essentielle pour la différenciation des espèces de champignons d'Aspergillus Niger des autres champignons du genre Aspergillus. Cela se fait en plaçant l'échantillon de champignon sur une lame de microscope en ajoutant des gouttes de bleu de méthylène, puis en observe au microscope. La lecture microscopique est basée sur des caractéristiques morphologiques spécifiques :

- Les colonies d'Aspergillus Niger sur des milieux de culture czapek simple sont initialement blanches, se transformant rapidement noires en raison de la production abondante de conidies noires
- Filaments longs et filamenteux, divisés en plusieurs branches de couleur transparente
- Les Conidiophores sont longues, lisses et peuvent atteindre plusieurs millimètres de longueur. Ils sont généralement droits et non ramifiés
- À la part du conidiophore se trouve une vésicule globuleuse ou semi-globuleuse. Cette vésicule est souvent de couleur noire
- Les phialides sont en forme d'ampoule et sont fixées directement sur la vésicule.



**Figure IV.8 :** Identification microscopique d'Aspergillus Niger

#### IV.4 Le milieu de culture :

Trois différentes études expérimentales pour la production d'acide citrique sont effectuées dans ce présent travail. La première utilise comme substrat le glucose et les écorces d'agrumes, la deuxième et la troisième études le glucose est remplacé par la mélasse miel et la mélasse poudre respectivement.

#### IV.4.1 Essai 1 : Ecorces d'agrumes et Glucose :

Un premier essai de production d'acide citrique est effectué en utilisant comme source de carbone le glucose avec les écorces d'agrumes. Le choix du glucose est dû à sa pureté. Le milieu de culture contient donc : Ecorces d'agrumes, Glucose, Sulfate et Eau distillée.

Ce mélange est préparé selon des proportions bien déterminées afin d'obtenir une concentration en sucre total désirée entre 10 et 20%, [Tableau IV.1]

**Tableau IV.1** : Les quantités de premier essai

Substance	Quantité
Écorce d'agrumes	250 g
Glucose	75 g
Eau distillée	1500 L
Aspergillus Niger	2,14 g
Sulfate d'ammonium	2,5 g

Cette expérience a été réalisée en utilisant le glucose pur dont le taux initial en sucre est de 99%, et les écorces d'agrumes est de 26 % de sucre totale. Le pH du milieu de culture initial est de 3,81 ; descendant à une valeur de 2,78 en fin d'expérience. Le sucre du milieu varie de 11,8% à 7,8% et la concentration d'acide citrique dans le milieu change de 8,65 g/l au début de la fermentation à 27,85 g/l en fin d'expérience.

- La température de fermentation a été maintenue entre 25,1 et 29,2°C.
- La durée de la fermentation pour cette expérience est de 12 Jours.

Les résultats ont montré que la production d'acide citrique atteignait son maximum au bout de 8 jours, lequel se stabilisait jusqu'à 12 jours.

#### **Calcul de la concentration d'acide citrique**

##### ❖ Le premier jour de fermentation

- 1- Le volume de solution d'hydroxyde de sodium consommé :
  - Le volume initialement définie : 26 ml
  - Le volume atteint au point d'équivalence : 35 ml

$$V_{\text{NaOH}} = 35 - 26 = 9 \text{ ml}$$

- 2- Calcul de la concentration d'acide citrique dans l'échantillon (C d'acide citrique) à l'aide de la formule suivante :

$$C_{\text{acide citrique}} * V_{\text{acide citrique}} = C_{\text{NaOH}} * V_{\text{NaOH}}$$

- $C_{\text{NaOH}}$  : est la concentration de la solution d'hydroxyde de sodium 0.1 mol/l
- $V_{\text{NaOH}}$  : est le volume de solution d'hydroxyde de sodium consommé 9 ml
- $V_{\text{acide citrique}}$  : est le volume de la solution d'acide citrique titrée 20 ml
- $C_{\text{acide citrique}}$  : est la concentration de la solution d'acide citrique titrée mol/L

$$C_{\text{acide citrique}} = C_{\text{NaOH}} * V_{\text{NaOH}} / V_{\text{acide citrique}}$$

$$C_{\text{acide citrique}} = 0.1 * 9 / 20$$

$$C_{\text{acide citrique}} = 0.045 \text{ mol/l} = 4.5\%$$

3- La concentration en g/L :

La masse molaire de l'acide citrique ( $C_6H_8O_7$ ) est 192,123 g/mol

$$C_{\text{acide citrique en g/L}} = C_{\text{acide citrique en mol/L}} * 192,123 \text{ g/mol}$$

Concentration en g/L =  $0,045 * 192,123$

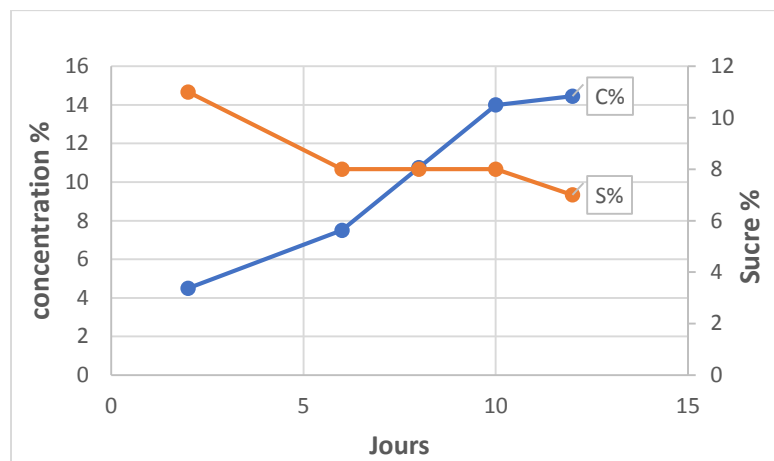
$$\text{Concentration } C = 8,65 \text{ g/L}$$

Les calculs dans le milieu de fermentation ont été effectués sur une période de 12 jours, et le tableau suivant résume les résultats obtenus, [Tableau IV.2].

**Tableau IV.2** : Différentes mesures de l'expérience

Température C°	PH	Sucre %	Concentration g/l	Date
20.2	3.81	11.8	8.65	22 Avril 2024
25.9	3.36	8.8	14.41	24 Avril 2024
25.1	3.10	7.8	20.65	28 Avril 2024
25.8	2.80	7.2	26.89	30 Avril 2024
26.2	2.78	6.2	27.85	2 Mai 2024

Les courbes dans la [Figure IV.9] présentent la concentration en acide citrique et en sucre dans le milieu de fermentation au cours de 12 jours de fermentation. Ces résultats obtenus montrent que la concentration en acide citrique dans le milieu continue d'augmenter au fil des jours, ce qui indique la formation d'acide citrique. Alors que la courbe de mesure du sucre montre que sa valeur diminue au cours du processus, ce qui s'explique par le fait que les micro-organismes du milieu se nourrissent de sources de sucres, entraînant en retour la formation d'acide citrique. On remarque également qu'après 11 jours de fermentation, ces variables se stabilisent dans une certaine mesure, et cela est dû au fait qu'elles ont atteint une production maximale d'acide.



**Figure IV.9 :** Une courbe de la concentration en acide citrique et de sucre dans le milieu en fonction du nombre de jours de fermentation

**✚ Oxygène dessous :**

Une sonde à oxygène a été utilisée pour mesurer la concentration en oxygène du milieu lors du quatrième jour de fermentation. La valeur d'O<sub>2</sub> dessous est de 30,3%, [Tableau IV.3]

**Tableau IV.3 :** Les mesures à l'aide d'une Sondes à oxygène pendant la fermentation pour un échantillon de 250 g du milieu

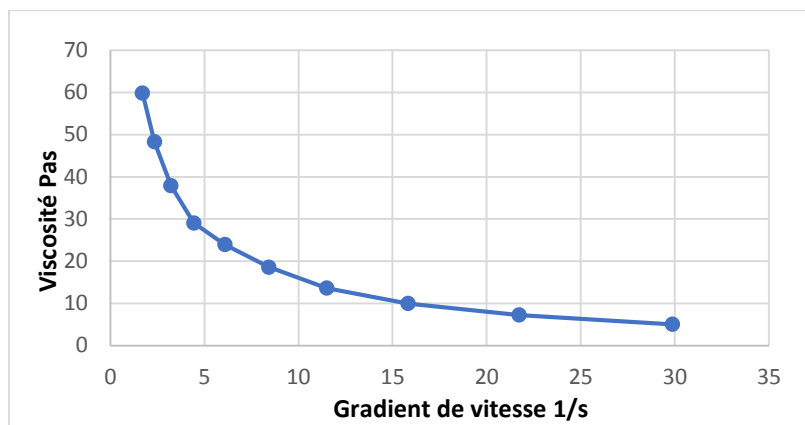
O <sub>2</sub> dessous	30,3%
% DO	2,37 mg/l
Conductivité	4052
Salinité	2,15 pse
Taux de matière des souche	2035 mg/l
pH	3,36
Turbidité	522 UNT

**✚ Viscosité :**

Echantillon de milieu avec écorces d'agrumes et Glucose :

Les résultats ont été obtenus à l'aide d'un appareil rhéomètre CVO Bohlin, les résultats de viscosités du milieu de fermentation avec écorces d'agrumes et glucose avant utilisation (présenté en viscosité en fonction de Gradient de vitesse 1/s) [Figure IV.10], indiquent une diminution de la viscosité lorsque le gradient de vitesse augmente. La valeur minimale obtenue est 5,071 Pa.s.





**Figure IV.10** : la viscosité on pas en fonction de Gradient de vitesse 1/s

#### IV.4.2 Essai 2 : Ecorces d'agrumes et mélasse miel :

Un deuxième essai de production d'acide citrique est effectué en utilisant la mélasse miel comme source de carbone avec les écorces d'agrumes. La mélasse remplace le glucose utilisé dans le premier car elle est riche source de sucres, en plus d'être moins cher par rapport aux autres sources de carbone. Le milieu de culture contient donc : Ecorces d'Agrumes, Mélasse miel, Sulfate et Eau distillée. Les quantités sont présentés dans [Tableau IV.5].

**Tableau IV.5** : les quantités de deuxième essai

Substance	Quantité
Écorce d'agrumes	112 g
Mélasse miel	336 g
Eau distillée	1050 L
Aspergillus Niger	2,14 g
Sulfate d'ammonium	2,5 g

On a effectué cette expérience en utilisant de la mélasse de miel prétraité par dilution à 20% de sucre total, tandis que pour les écorces d'agrumes il est de 26 %. Le pH initial du milieu de culture est de 4,7 et diminue à 4.1 à la fin de l'expérience. Au début de la fermentation, le taux de sucre dans le milieu est de 17,2% et devient 14,7% en fin de fermentation. Tandis que la concentration d'acide citrique dans le milieu passe de 15,85 g/l à 23,05 g/l à la fin de l'expérience.

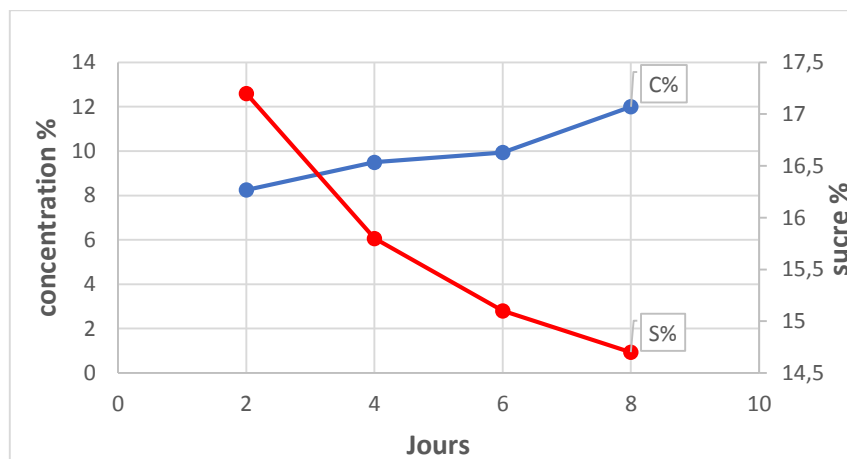
- La température de fermentation a été maintenue entre 21,9 et 29°C
- La durée de la fermentation pour cette expérience est de 8 jours.

Le tableau ci-dessous résume les mesures enregistrées pendant les jours de l'expérience.

**Tableau IV.6 : Déférente mesures de l'expérience**

Températures C°	PH	Sucre%	Concentration g/l	Date
29	4.7	17.2	15.85	13 mai 2024
21.9	4.42	15.8	18.25	15 mai 2024
25.2	4.32	15.1	19.1	19 mai 2024
26	4.1	14.7	23.05	20 mai 2024

La concentration en acide citrique et le sucre dans le milieu de fermentation pendant 9 jours est illustrée par les courbes présentes dans la [Figure IV.11]. Les résultats obtenus indiquent qu'au fil des jours, la concentration en acide citrique dans le milieu continue d'augmenter, ce qui suggère la formation d'acide citrique. La courbe de mesure du sucre montre que sa valeur continue de diminuer au cours du processus, il s'agit de la même observation que celle enregistrée auparavant dans la première expérience ; (quoique cette diminution est plus importante dans cet essai).

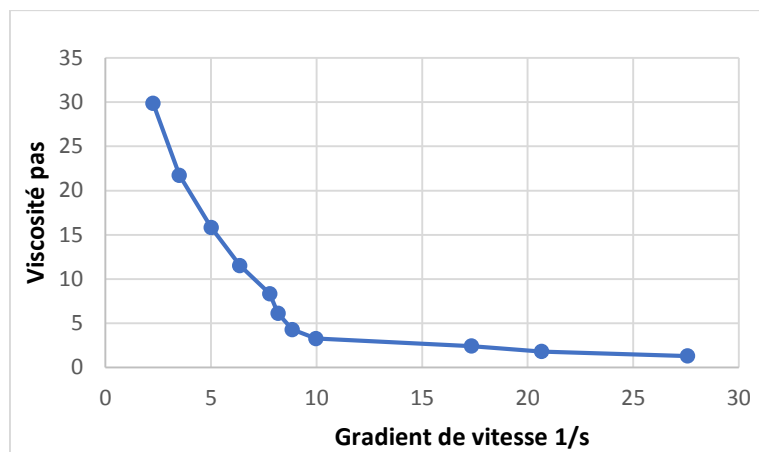


**Figure IV.11 :** Courbes de la concentration en acide citrique et de sucre dans le milieu en fonction du nombre de jours de fermentation

#### **Viscosité :**

##### Echantillon de milieu avec écorces d'agrumes et mélasse miel :

Les résultats de viscosité du milieu de fermentation avec des écorces d'agrumes et mélasse miel avant utilisation sont présentés dans la courbe de [Figure IV.12]. Cette viscosité (Pa.s) en fonction du gradient de vitesse (1/s), indique une diminution de la viscosité lorsque le gradient de vitesse augmente jusqu'à une valeur acceptable égale à 2,262 pas. Le milieu de culture Par la suite, il arrive à 0,5-1 Pa.s (pseudo-plastique) qui est approprié pour la fermentation.



**Figure IV.12:** la viscosité en pas en fonction de Gradient de vitesse 1/s

#### IV.4.3 Essai 3 : Ecorces d'agrumes et mélasse poudre :

Un troisième essai de production d'acide citrique avec la mélasse poudre riche en sucre et des écorces d'agrumes comme source de carbone est réalisé dans un mélange préparé en respectant des proportions précises, pour obtenir une concentration en sucre total souhaitée égale 20%. Le milieu de culture contient donc : Ecorces d'agrumes, Mélasse poudre, Sulfate et Eau distillée. Les quantités sont présentés dans **Tableau IV.7**.

**Tableau IV.7 :** les quantités de troisième essai

Substance	Quantité
Écorce d'agrumes	199.9 g
Mélasse poudre	399 g
Eau distillée	900 L
Aspergillus Niger	2,14 g
Sulfate d'ammonium	2,5 g

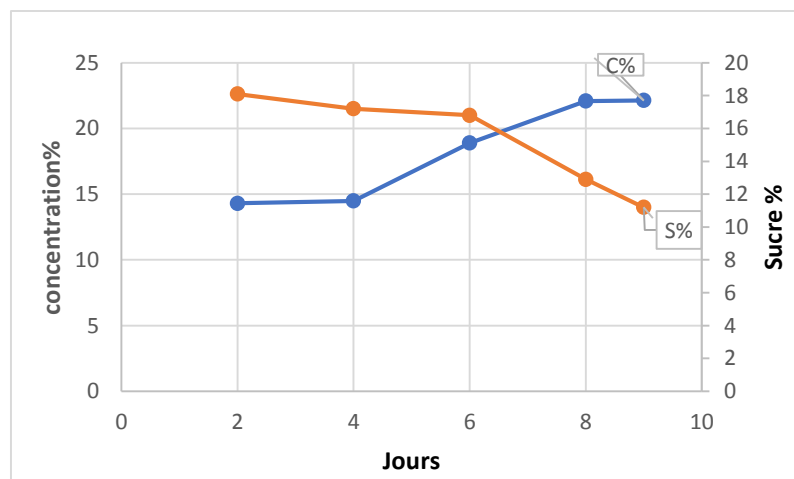
On a effectué cette expérience en utilisant de la mélasse poudre prétraité par dilution, tandis que pour les écorces d'agrumes, on a utilisé la même méthode que pour les premiers essais. Le pH initial du milieu de culture est de 4,3 et devient égale à 3 à la fin de l'expérience. Au début de la fermentation, le taux de sucre dans le milieu est 18,1% et descend à 14,2% ; tandis que la concentration d'acide citrique dans le milieu passe de 14,3 g/l à 24,04 g/l à la fin de l'expérience.

- La température de fermentation a été maintenue entre 23 et 29°C
- Pour cette expérience la durée est de 8 Jours.

**Tableau IV.8 : Différentes mesures de l'expérience**

Température C°	PH	Sucre %	Concentration g/l	Date
24.2	4.3	18.1	14.3	27 mai 2024
23	4.1	17.2	14.49	29 mai 2024
24.7	3.6	16.8	18.9	31 mai 2024
25.8	3.4	12.9	22.09	2 juin 2024
26.2	3.2	11.2	22.14	3 juin 2024

Les courbes de la [Figure IV.13] illustrent la concentration en acide citrique et de sucre dans le milieu de fermentation pendant une période de 8 jours. Les résultats obtenus montrent que la concentration en acide citrique continue d'augmenter au fil des jours, ce qui laisse supposer qu'il y a production d'acide citrique. Selon la courbe de mesure du sucre, il est observé que sa valeur continue de diminuer tout au long du processus

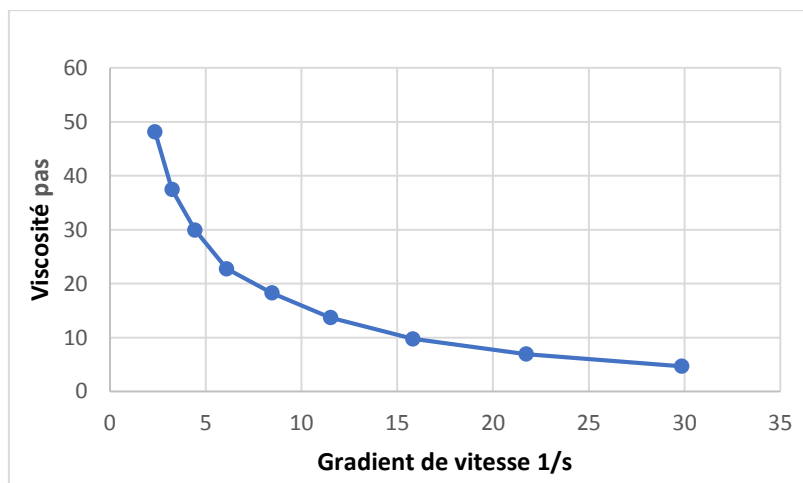


**Figure IV.13 :** Une courbe de la concentration en acide citrique et de sucre dans le milieu en fonction du nombre de jours de fermentation

**Viscosité :**

Echantillon de milieu avec écorces d'agrumes et mélasse poudre :

La figure ci-dessous illustre les résultats obtenus. D'après les données de la courbe, il est évident que ce milieu qui renferme de la poudre de mélasse, présente une viscosité minimum bien plus grande 4,71 Pa.s comparable à celle du premier milieu, ce qui rend difficile le déplacement continu des micro-organismes dans le milieu.



**Figure IV.14 :** la viscosité en pas en fonction de Gradient de vitesse 1/s

#### IV.5 L'acide citrique obtenu :

Trois différentes expériences ont été menées pour produire de l'acide citrique en utilisant des écorces d'agrumes comme principale source de matières premières. L'étude vise à comparer l'effet de l'utilisation de différentes sources de sucres sur la quantité d'acide citrique obtenue. Les sources utilisées dans ces expériences sont respectivement le glucose, la mélasse miel et la poudre de mélasse. L'efficacité de chaque expérience a été évaluée en fonction de la quantité d'acide citrique produite et ces caractéristiques.

À la fin de la fermentation, la même technique a été utilisée pour extraire l'acide citrique dans tous les essais, en commence par l'extraction de liquide contenant de l'acide citrique par filtration répétée jusqu'à ce que tous les résidus fongiques et autres composants de fermentation soient éliminés. La solution a ensuite été concentrée en éliminant l'excès d'eau à l'aide d'un rota-vapeur dans des conditions spécifiques. Après cela, les solutions d'acide citrique obtenues pour chaque expérience, sont chauffées et mélangées avec une quantité de 2 g de chaux (CAO) afin de former un précipité de citrate de calcium ( $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$ ). Ensuite, il est séparé à l'aide d'une centrifugeuse et traité avec de l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) pour précipiter l'acide citrique ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ) et le sulfate de calcium ( $\text{CaSO}_4$ ). À la fin de ce processus, du charbon actif est ajouté pour éliminer la couleur de la solution puis évaporé pour former des cristaux d'acide citrique.

##### La première expérience

###### Ecorces d'agrumes et glucose :

Le milieu de glucose est le milieu le plus compact et le plus visqueux. Il s'agit du fait que le glucose est rapidement soluble, ce qui contribue, avec les écorces d'agrumes, à la formation d'un milieu plus épais. Ce qui gêne beaucoup le processus de fermentation pour

les micro-organismes *Aspergillus Niger*. Les résultats obtenus de solution d'acide citrique donnent un pH de 3,1. En outre, le taux de sucre total est de 5,8 %, tandis que la concentration d'acide citrique résultant est de 19,8 g/l, ce taux est le plus bas comparé à autres expériences.

#### ✚ La deuxième expérience

##### Écorces d'agrumes et mélasse miel :

Le milieu de fermentation de mélasse miel est le meilleur choix, car il présente le taux de viscosité le plus bas, ce qui est parfait pour les micro-organismes *Aspergillus Niger*. Cela favorise un meilleur flux d'oxygène, ce qui permet aux champignons de se déplacer et de croître plus rapidement, et contribue à la production d'une plus grande quantité d'acide en un temps plus court. On a obtenu les résultats suivants : un pH de 4,2 ; un taux de sucre total de 6,4 % et de concentration d'acide citrique de 23,4.

#### ✚ La troisième expérience

##### Écorces d'agrumes et mélasse poudre :

Les caractéristiques de ce milieu sont similaires à celles du premier milieu, car il est plus dense que le deuxième milieu, mais il produit une plus grande quantité d'acide citrique en raison des propriétés de la mélasse, riche en nutriments nécessaires au processus de fermentation. La quantité d'acide citrique produite est moyenne. On a obtenu les résultats suivants : un pH de 3,3 ; le taux de sucre total de 6,2 %, quant à la concentration d'acide citrique résultant est de 22g/l.

En conclusion, La quantité d'acide citrique est la plus élevée dans la deuxième expérience, suivie de la troisième expérience. Il est donc préférable d'utiliser de la mélasse miel dans le milieu nutritif pour obtenir de l'acide citrique à partir des champignons *Aspergillus Niger*. La présence de glucose et de mélasse poudre accroît la viscosité de milieu, ce qui limite le déplacement des champignons et diminue l'efficacité de la production.

## ***CONCLUSION GENERALE***

L'étude sur la mise en valeur des écorces d'agrumes et des mélasses pour la production d'acide citrique par fermentation avec les champignons *Aspergillus Niger*, a donné des résultats significatifs. Démontrant ainsi un potentiel considérable pour l'exploitation de ces sous-produits déchets, qui deviennent des matières premières précieuses pour la production d'acide citrique, un composé organique qui trouve de nombreuses applications comme les secteurs alimentaire, pharmaceutique et chimique.

D'après les expériences, l'emploi d'écorces d'agrumes et de mélasse miel est un milieu de culture source de carbone parfait pour la production industrielle d'acide citrique. Sous des conditions initiales de 20% de quantité de sucre, de pH 4,7 et avec des quantités en grammes 112/336/2,5 des écorces, mélasse et sulfate d'ammonium plus une quantité d'eau distillée de 1,05 litres. Ce milieu offre une viscosité optimale pour le processus de fermentation, ce qui permet un mouvement et une croissance des champignons plus rapides en présence de conditions d'oxygène favorables, ce qui a permis de produire une quantité d'acide plus importante dans un temps plus court. Les résultats les plus satisfaisants sont obtenus à un pH de 4,2. De plus, on a estimé la concentration totale en sucre du milieu à 6,4 % et la concentration d'acide citrique produite à 23,4 g/l. Ces résultats suggèrent une alternative économique prometteuse avec des coûts de production bas.

Les résultats de cette étude confirment que les champignons *Aspergillus Niger* sont une alternative efficace pour la production d'acide citrique en raison de leur efficacité remarquable et de leur capacité à s'adapter. Cela incite à mettre en œuvre des méthodes similaires dans d'autres secteurs afin de créer des solutions novatrices et durables aux défis environnementaux et financiers. Cette recherche permet également d'explorer de nouvelles perspectives pour améliorer les processus de production industrielle d'acide citrique et contribue à diminuer la dépendance envers les ressources non renouvelables, ce qui favorise un développement durable à long terme.

## *Références Bibliographiques*



## A

- Addou, A. (2009).** Traitement des déchets : valorisation, élimination. Ellipses, (pp95-98).
- Arzate A. (2005).** Extraction et raffinage du sucre de canne. Revue de l'ACER (Centre de Recherche, de développement en acériculture).Saint Nobert-d'Arthabaska, (pp22).
- Angumeenal, A.R. and Venkappayya, D. (2013).** An Overview of Citric Acid Production. Food Science and Technology, (pp 367-370).
- Aguis, A. Idoui, N & Mechouche, D. (2008)** Utilisation d'Aspergillus Niger pour la synthèse des acides organiques. Mémoire de l'Université de Jijel, (pp 24-25).
- Azzouz zahra, (2015)** Production de cellulases et de xylanases fongiques par fermentation solide et liquide à base de paille et de son de blé.
- AGROVIN. (2012)** Acide Citrique Acidifiant et antioxydant de moûts et de vins. Rev. AGROVIN (pp10).
- Asad-ur-Rehman, A. Sikander and Ikram-ul-Haq. (2002)** "Temperature optima for Citric Acid Accumulation by Aspergillus niger"Biotechnology, volume 1 Number 2-4: (pp108-110).
- Algerie Eco. (30 janvier 2024).** *La production d'agrumes en Algérie atteint plus de 1,8 million de tonnes pour la saison agricole en cours.* Algérie Eco.
- AO/WHO (1995).** (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture/Organisation mondiale de la Santé). *General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (CODEX STAN 193-1995).* Codex Alimentarius Commission.

## B

- Biche M, 2012.** Les principaux insectes ravageurs des agrumes en Algérie et leurs ennemis naturels. Ed. Institut national de la protection des végétaux et le ministère de l'agriculture et du développement durable et FAO.
- Bénédicte ; Michel B. (2011).** Agrumes (comment les choisir et les cultiver facilement), édition Eugen Ulmer, Paris ; (6-11p, 68-70p).
- Bocco et al, 1998** Organisation d'un événement sur les composés des écorces d'agrumes. Activités pédagogiques en botanique (pp648-654).
- Bernard M., Chapoutout P., Chatelet M., Guérault M., Jubert M., Morel d'Arleux F., Taccard M., Mariani M., Tierny M. (1991).** Mélasse de betterave et la canne. Coproduits de la betterave. Comité national des coproduits
- Briki, K. (2013).** Production d'acide citrique par Aspergillus Niger cultivée sur milieu à base de dattes "variété Ghars". Master académique, université kasdi merbah Ouargla
- Boulais, J. (1947).** L'utilisation des déchets industriels d'agrumes et d'ananas. Fruits d'Outre-Mer, Vol. 2, N°2.

**B. Botton and al. (1990)** "Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle", Ed. Masson, Paris.

**BRIKI, Samia. (2021)** thème Effet des techniques de conservation sur la qualité de la grenade, Thèse Doctorat 3 ème cycle (LMD).

**Brookfield RS-CPS+ Rhéomètre:** Brookfield Engineering Laboratories, INC. Manual No. M08-218-B021

**Bendada K., Boulakradeche M.W. (2011)** Optimisation des conditions de dosage par spectroscopie d'absorption atomique (SAAF et SAAET) : Application à la détermination de la pollution et de la bioaccumulation des métaux lourds. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene.

## C

**Chandrasekaran, M. (2012)** Valorisation of Food processing by-products. CRC Press.

**Clément J.M. (1978)** Dictionnaire des industries alimentaires. (191p et 254 p).

**Curtin L.V. (1983)** Molasses général considérations, molasses in animal nutrition, National Feed Ingrédients Association, (pp 3-9).

**Caldwell D. (1997)** Molasses in feeds. West way Trading Corporation, Cedar Lake, IN.49p

**Corinne Tanguy, Gisela Argenti. (2007)** Coopération et innovation dans le secteur des agrumes : les réseaux sociotechniques à l'œuvre à la frontière entre l'Uruguay et Dans Géographie, économie, société , (pp 283 à 296).

**Courteau A. (2005)** La canne à sucre et l'environnement à la réunion. (pp 31)

**Chériet, D. (2021)** La production d'acide citrique. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Batna 2, Algérie.

**Chillon, G. S. (2012)** Valorisation de déchets agro-industriels par bio production fongique d'un important produit de plate-forme (l'acide citrique) avec extraction simultanée de chitosane. Université du Québec, (7p).

## D

**Dambier D, Ben Yahia H, Pensabene-Bellavia G, Kaçar Y.A, Froelicher Y, Belfalah Z, Lhou B, Handaji N, Printz B, Morillon R, Yesiloglu T, Navarro L et Ollitrault P. (2011)** Somatic hybridization for citrus rootstock breeding: An effective tool to solve some important issues of the Mediterranean citrus industry. Plant Cell Reports 30, (pp 883 -900).

**Dorji K., Yapwattanaphun C. (2011)** Morphological Identification of Mandarin (Citrus reticulata Blanco) in Bhutan ; Kasetsart J. (Nat. SCI.) ; 45 : (pp 793 – 802).

**D.R. Berry and al. (1977)** "Citric acid fermentation in genetics and physiology of Aspergillus", Ed. J.A. Pateman, Academic Press, London, (pp. 405-426).

## E

**Esaïe Kouadio, Appiah Kouassi, Yaya Soro, Carlos Vaca-Garcia, Benjamin Yao Kouassi. (2017)** Valorisation des déchets d'agro ressources par bio production d'acide citrique, J. Soc. Ouest-Afr. Chim. J. Soc. Ouest-Afr. Chim. (pp37-44).

**Encyclopædia Britannica. (2021)** Inc. "Titre de l'article." Encyclopædia Britannica.

**EPA (Environmental Protection Agency des États-Unis). (1994)** *Method 200.8: Determination of Trace Elements in Waters and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*. Washington, DC : EPA.

**EFSA (Autorité Européenne de Sécurité des Aliments). (2011)** *Scientific Opinion on Cadmium in Food*. EFSA Journal, 9(2), 1975.

## F

**Farhat, A. (2011)** Composition chimique globale et teneur des écorces d'agrumes. In Agro-industrie, 35(167), (pp 20-24).

**Ferchichi, M. (2022).** Biochimie Métabolique : Le cycle tricarboxylique. Université Virtuelle de Tunis.

**F. Hamissa and al. (1992)** "Citric acid production from beet molasses", Bioresource Technology, (pp.39 ET 209).

**Franck CURK, François LURO, Giovanni MINUTO, Gianni NIEDDU. (2023)** Les agrumes du Nord de la Méditerranée, publié avec le concours de INRAE et Projet Interreg Maritime Fr-It - Mer d'agrumes, Europe, Éditions Alain Piazzola (pp100-111).

## G

**Gollouin, P. & Tonelli, M. (2013)** Organisation d'un événement sur le thème du citron. Dans Association des Professeurs de Biologie, Activités pédagogiques en botanique (pp 250).

## H

**Hugot. (1987)** La sucrerie de canne. Ed : Technique et documentation Lavoisier

## K

**Kulkarni. D. P. (1996)** Cane Sugar Manufacture in India. The sugar technologists' association of India. (pp 390-396).

**K. Kirimura and al. (1990)**"Production of cellulases and citric acid by intergeneric fusions obtained via protoplast fusion", Agri. Bio. Chem.

## L

- Lim. T.K. (2012)** Citrus reticulata Blanco in Edible medicinal and non-medicinal plants. Springer sciences et Business Media B.V.; 4: 695-715p.
- Liang .Y ; Yu .L; Li X ; Liu .S; Xu .G; Liang .Y. (2009)** Comparative analysis of volatile constituent in citrus Reticulata Blanco using Gc-Ms and alternative moving window factor analysis; J.Sep.Sc( pp 3457-3465).
- Loussert, P. (1989)** Activités pédagogiques en botanique : L'orange. Association des Professeurs de Biologie (pp.300-302).
- Ledesma Escobar, C. A., & Luque de Castro, M. D. (2014)** Organisation d'un événement sur le thème des écorces d'agrumes. Dans Association des Professeurs de Biologie (APA), Activités pédagogiques en botanique (pp.45-47).
- Liouane, L., & Fatiha, B. (2015)** Défis techniques du traitement et de la conservation des écorces d'agrumes. In Agro-industry, 39 (181), (pp 22-27).
- Larpen J.P. et Larpen M. G. (1985)** Éléments de microbiologie, (pp 369).Hermann
- L. Hepner and C. Male. (1992)**"Production de l'acide citrique par Aspergillus sur milieu à base de mélasse de canne à sucre", Ed. Gana et Hami.
- L. Majumder, I. Khalil, K. Munshi, K. Alam, H. Rashid, R. Begum and N. Alam.(2010)** " Citric Acid Production by Aspergillus Niger Using Molasses and Pumpkin as Substrates", European Journal of Biological Sciences, 2 (1): (pp 01-08).

## M

- Milind, R. & Dev, S. (2012)** Organisation d'une activité pédagogique sur le genre Citrus. Association des Professeurs de Biologie.
- M'HIRI Nouha. (Novembre 2015)** Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange « Maltaise demi sanguine » et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone, thèse de doctorat présenté à l'université de Lorraine (France).
- Max, B., Salgado, J. M., Rodriguez, N., Cortés, S., Converti, A., & Domínguez, J. M. (2010)** Biotechnologique production of citric Acid. *Brazilian Journal of Microbiologie*, 41(4), (pp 862-875).
- Mattey, M. (1992)** The production of organic acids. *Critical Reviews in Biotechnology*, 12(2), (pp 87-132).
- Moretti & F. Felippone, (1996)** quot ; Acide citrique par fermentation & quot ; Techniques de l'Ingénieur, vol. J 6062.

## N

- Nadeem, S., Ahmed, I., Mutalib, I. A., Tufail, M., & Khan, M. S. (2014).** Applied Mechanics and Materials; Zurich, Vol. 625, (pp 61-64).

## O

**O. Siboukeur, M.D. Ould El Hadj and F. Zargat (2001)** "Contribution à l'Etude de la Production d'Acide Citrique par *Aspergillus niger* Cultivée sur Moût de Dattes de la Variété Ghars », Production et Valorisation – Biomasse, (pp 93- 96).

**Olbrich H. (2006)** the molasses. Biotechnologies-Kempe GmbH. Berlin. (pp 6- 14).

## P

**Padrini, F., Lucheroni, M.T. (1996)** Le grand livre des huiles essentielles - guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et L'aromassage Energetiques avec Plus de 100 Photographies. Paris : Ed. De Vecchi (pp11, 15, 61).

**P. Simon and R. Meunier. (1970)** "Microbiologie industrielle et génie biochimique", Ed. Masson, Paris, (pp 424-427).

## R

**Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., Aruoma, O.I. (2010)** Bioactive phenolic and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278:(pp 75-87).

**Roukas, T. (1998)** Fermentation of citric acid with cellulose hydrolyte by *Aspergillus Niger*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, (pp 43–53).

**R. Arnaud and J.-P. Guiraud, (1988)**"Biochimie microbienne", Ed. Masson, Paris.

**R, Huet Raymond. A. LEDERGERBER (1964)** Valorisation des sous-produits d'agrumes, (les écorces d'agrumes pour l'alimentation du bétail) Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (I .F . A. C) (pp 349).

## S

**Schimmenti E., Borsellino V. ET Galati A. (2013)** Growth of citrus production among the Euro-Mediterranean countries: political implications and empirical findings. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11 (3), 561 – 577p.

**Shohaib.T, Shafique M., Dhanya.N, Madhu.C.Divakar. (2011)** Importance of flavonoides in therapeutics; *Hygeia Journal for Drugs and Medicines (.J.D.M)*; 3 (1): (pp1-18).

**Santos R. M., Fortes G. A. C., Ferri P. H., Santos S. C. (2011)** Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of *Eugenia uniflora*; *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn*; 21(4): (pp581-586).

**Sally.El kantar. (2019)** Valorisation des coproduits Issus des industries d'agrumes : extraction des molécules bio actives par des technologies innovante (pp 43).

**Siboukeur O., Ould El Hadj M.D. et Zargat F. (2008)** contribution à l'étude de la production d'Acide Citrique par *Aspergillus Niger* Cultivée sur Mout de Dattes et de la variété Ghars.*Rev.Energ.Ren* : production et valorisation. (pp 93-96).

**Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J., & van Dijck, P. (2002)** On the safety of *Aspergillus Niger* – a review. *Volume 59*, (pp 426–435).

**Selon Meyer, Deiana et Bernard. (2004)** la microbiologie générale est abordée dans leur cours avec des problèmes et des exercices corrigés. France, 204-205.

## T

**Touzi, A., Koceir, S., & Mazouni, S. (1992)** Mise au Point d'un Milieu de Culture à Base de Mélasse de Canne en Vue de la Production d'Acide Citrique par *Aspergillus Niger*. *Technologies Avancées, Vol 2, N°1*, (pp 38-41).

**T. Roukas. (2000)** "Citric and gluconic acid production from fig by *Aspergillus Niger* using solid-state fermentation", *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, (pp 25, 298-304).

## U

**Ulmann,** "Encyclopedia of industrial chemistry", vol. A7, (pp. 103-108).

## V

**Vandenbergh, L. P., Soccol, C. R., Pandey, A., & Lebeault, J. M. (1999)** Microbial production of citric acid. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 42(3), (pp 263-276).

**Vincent, Morgant. (1988)** Optimisation de la production d'acide citrique par *Aspergillus Niger* avec un procédé de surface, école doctorale, sciences pour l'ingénieur.

## W

**Wang J. (1998)** Improvement of Citric Acid Production by *Aspergillus Niger* with Addition of Phytate to beet Molasses. *Bioresource Technology*.65. (pp 243-245).

**Williams et Cloete.(2010)** ALLAG A & SAOUDI I (2020-2021) La bio production d'acide citrique par valorisation biotechnologique des sous-produits de dattes , Mémoire Master en Biochimie Appliquée ,Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie , Université LARBI BEN MHIDI OUM EL BOUAGHI ,(pp19).

**Wang, Y., & Chen, S. (2019)**"Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Citrus Essential Oils." *Molecules*, 24(7), (pp 1232).

**Wang, L., Li, Y., & Zhang, L. (2014)** "Chemical characterization of molasses and its potential as a feedstock for ethanol production." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(47), (pp 11569-11575).

## X

**X. Gang and T.P. West. (2007)** "Citric Acid Production by *Aspergillus niger* on the Ethanol Dry Milling Coproduct Thin Stillage", *Research Journal of Microbiology*, Volume 2, Issue: 9.

**X. Gang and T.P. West. (2006)** "Citric acid production by *Aspergillus Niger* on wet corn distiller's grains", *Letters in Applied Microbiology*, Volume 43, Issue 3.

## **Y**

**Y.D. Hang and E.E. Wooddams**, "Utilization of grape pomace for citric acid production by solid-state fermentation", Am. J. Enol Vitic, 37 :(pp1).

## **Z**

**Zergat, F. (1996)** Biochimie des acides organiques et applications en alimentation. Éditions Techniques.

# *Annexes*



## *Table des matières*

### **Fiche d'information**

#### **Chapitre I : Introduction du projet**

- I.1. L'idée de projet
- I.2. La valeur proposée
- I.3. Equipe de travail
- I.4. Objectif de projet
- I.5. Calendrier de réalisation du projet

#### **Chapitre II : Aspects innovants**

- II.1. Nature des innovations
- II.2. Domaines d'innovation

#### **Chapitre III : Analyse stratégique du marché**

- III.1. Le segment de marché
- III.2. Mesure de l'intensité la concurrence
- III.3. La stratégie marketing

#### **Chapitre IV : Plan de production et d'organisation**

- IV.1. Le Processus de production
- IV.2. L'Approvisionnement
- IV.3. La main d'œuvre
- IV.4. Les Principaux partenaires

#### **Chapitre VI : Plan financier**

- VI.1. Les coûts et les charges
- VI.2. Numéro d'affaires (scénario optimiste)
- VI.3. Numéro d'affaires (scénario pessimiste)

#### **Chapitre VI : Prototype expérimental initial**

- VI.1. Prototype expérimental
- VI.2. Business model Canvas

## **Fiche d'information**

### **L'équipe de projet**

#### **1- Équipe de supervision :**

<b>L'équipe de supervision</b>	
<b><u>Encadreur :</u></b>  Pr. Mohamed El Hocine BENHAMZA	<b><u>Spécialité :</u></b>  Génie Chimique

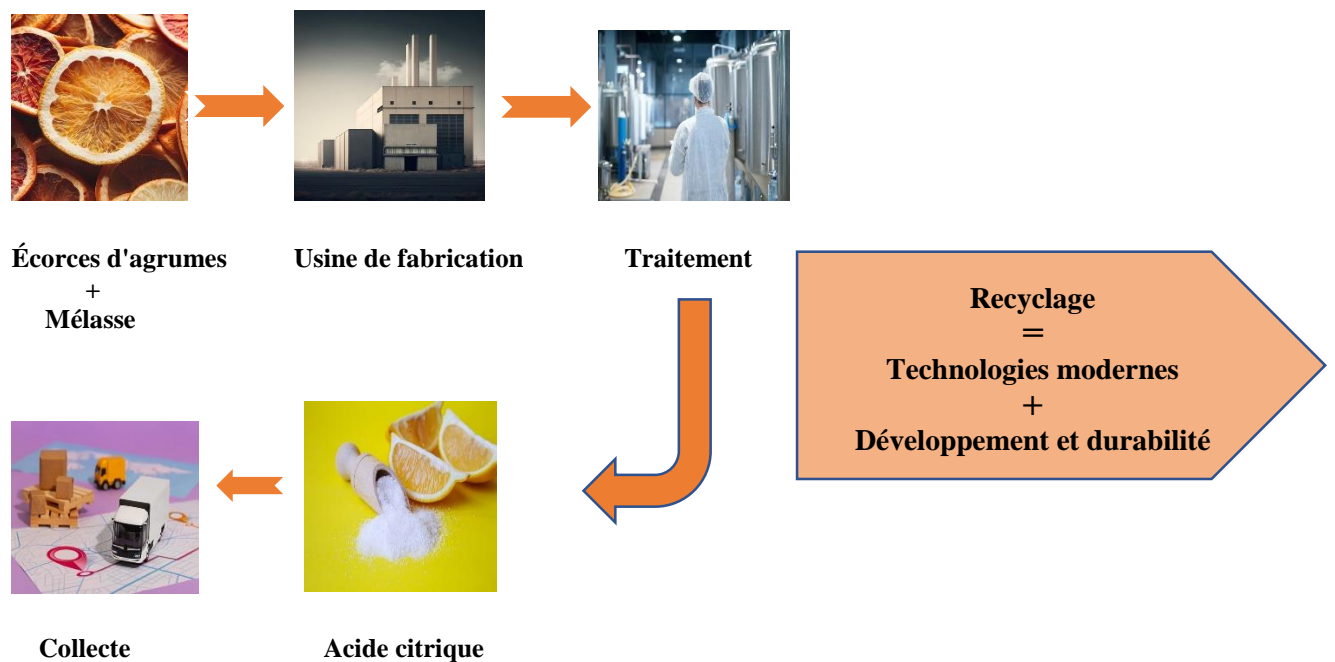
#### **2- L'équipe de travail :**

<b>L'équipe de projet</b>	<b>Spécialité</b>	<b>Faculté</b>
HADDAD Chahinaz	Génie chimique	Faculté des Sciences et de la Technologie
AMIRA Rawane Feyrouz	Génie chimique	Faculté des Sciences et de la Technologie

## Chapitre I : Introduction du projet

### I.1. Idée du projet (Solution proposée) :

Les écorces d'agrumes ainsi que la mélasse sont utilisées dans notre projet pour produire de l'acide citrique et ceci au moyen de champignon d'Aspergillus Niger. Il s'agit d'un modèle d'intégration de la technologie verte et des techniques modernes qui favorisent le développement et la durabilité. Ce projet fait partie des industries chimiques.



L'idée de ce projet est née de notre intérêt pour le manque d'acide citrique fabriqué localement. L'acide citrique est considéré comme un composant chimique très important dans plusieurs domaines d'industrie et de production tels que : alimentaire (confiserie, conserverie, boissons), cosmétique, pharmaceutique et médical. D'autre part ce produit est importé en grande quantités car la production nationale ne couvre que 20% de besoin de marché local.

Notre étude s'est basée sur la recherche de la possibilité de produire cet acide au niveau local par valorisation des déchets alimentaire. Des études ont démontré la possibilité d'extraire l'acide citrique des écorces d'agrumes et de mélasse, ces derniers sont perçus comme une source d'innovation pouvant servir de matière première. L'objectif est donc de mettre en valeur les écorces d'agrumes et mélasse afin de diminuer leurs impacts sur l'environnement (pollution et gaspillage des ressources). La méthode de fabrication et de traitement est innovante et avancée

avec une efficacité accrue, elle est basée sur la technologie de fermentation en utilisant des champignons d'Aspergillus Niger.

Nous proposons donc dans ce projet une solution durable alliant rentabilité et recherche scientifique en développant un produit valorisant les écorces d'agrumes/mélasse grâce aux nouvelles technologies.

L'entreprise se situera dans une zone industrielle proche des entreprises ayant des sous-produits comme écorces d'agrumes et mélasse ; telles que les usines de jus et de sucre.

## I.2. Valeurs proposées :

La valeur ajoutée que le projet apportera :

- ✓ Fournir de l'acide citrique de haute qualité aux entreprises industrielles qui fabriquent des produits alimentaires, pharmaceutique et de cosmétique, etc.
- ✓ Fournir un revenu supplémentaire aux agriculteurs et aux entreprises qui se débarrassent des écorces d'agrumes
- ✓ Valorisation et exploitation des déchets des écorces d'agrumes et mélasse en les transformant en un produit essentiel qu'est l'acide citrique
- ✓ Utilisation des matières premières disponibles localement, ce qui contribue à réduire les coûts de fabrication et le prix du produit final
- ✓ Adaptation du produit final en fonction des besoins spécifiques des clients (composition, concentration, etc.)
- ✓ Disponibilité d'un produit très demandé sur le marché local et international.

## I.3. L'équipe de travail :

Les membres de l'équipe du projet sont les suivants :

- **Étudiant 01** : HADDAD Chahinaz ; MASTER 2 – GENIE CHIMIQUE
- **Étudiant 02** : AMIRA Rawane Feyrouz ; MASTER 2 – GENIE CHIMIQUE

## I.4. Les objectifs du projet

- Satisfaire les exigences du marché local en acide citrique: L'Algérie est considérée comme l'un des plus grands producteurs d'agrumes au monde, mais d'un autre côté, elle dépend fortement des importations d'acide citrique pour répondre aux besoins du marché local. Ce projet vise à combler cette lacune en produisant de l'acide citrique à

base de matières premières locales (écorces d'agrumes et mélasse), ce qui contribuera à réduire la dépendance aux importations.

- Création de nouvelles opportunités d'emploi dans les domaines de l'agriculture, de l'industrie et de la technologie.
  - Nous visons à mettre des fonds dans la recherche et le développement afin d'améliorer les méthodes de fabrication de l'acide citrique et créer de nouveaux produits à valeur ajoutée et de haute qualité.
  - Substitution des importations : Le gouvernement algérien vise à stimuler la production nationale et à réduire les importations. Ce projet contribuera donc d'atteindre cet objectif en produisant localement de l'acide citrique plutôt que de l'importer.
  - Appliquer des pratiques de production durables pour réduire l'impact environnemental en convertissant un sous-produit, les écorces d'agrumes et mélasse, en acide citrique (un produit précieux).
- ✓ L'objectif principale de ce projet au cours des cinq premières années, est d'atteindre une part estimée à 40 % du marché nationale de l'acide citrique. Et d'atteindre une part de marché d'environ 20 % de la part de marché au niveau régional, au cours des vingt premières années.

## I.5. Un calendrier pour la réalisation du projet :

		Mois								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
2 3 4 5	 Études préalables : choix de l'implantation de l'unité de production, préparation des documents nécessaires	✓	✓	✓	✓					
	 Commande des équipements			✓	✓	✓				
	 Construction d'un siège de production (usine)				✓	✓	✓	✓	✓	
	 Installation des équipements							✓	✓	
	 Achat de matières premières							✓	✓	
	 Réalisation du prototype									✓

## *Chapitre II : Aspects innovants*

### **II.1. Nature des innovations :**

#### **Innovations croissantes :**

Ce projet présente des améliorations progressives de la méthode traditionnelle de production de l'acide citrique ; en adoptant une technique relativement nouvelle qui n'a pas encore été utilisée à grande échelle commerciale en Algérie, à savoir la technique de production d'acide citrique à partir d'écorces d'agrumes et de mélasse à l'aide de champignons d'aspergillus Niger. Cette technologie contribue à accroître l'efficacité de la production et à réduire les coûts. Elle donne également une valeur ajoutée à une matière première locale (les écorces d'agrumes et la mélasse) qui sont généralement des déchets envoyés à la décharge, en la transformant en un produit chimique important utilisé dans de nombreuses industries.

Ce projet présente un grand potentiel de croissance et de développement dans le futur, car il s'inscrit dans le cadre de la durabilité environnementale et de l'innovation durable. De plus, cette technologie peut être appliquée à la production d'autres produits chimiques à partir de sources renouvelables.

#### **Innovation sur le marché :**

L'acide citrique est fabriqué à l'aide d'une technologie assez récente qui n'a pas encore été exploitée commercialement en Algérie, à savoir la fermentation à l'aide de champignon Aspergillus Niger. L'efficacité de cette technologie dans la production d'acide citrique est remarquable, avec des niveaux de pureté élevés qui respectent les normes internationales. Cela permet de réduire les efforts et le temps nécessaires, tout en favorisant l'ouverture de nouveaux marchés pour le produit, tels que l'industrie pharmaceutique et cosmétique. En outre, cette idée joue un rôle essentiel dans la création d'un produit novateur qui aide à résoudre le problème de la pollution et à promouvoir la durabilité en utilisant des écorces d'agrumes recyclées et de la mélasse locale, en les transformant en un produit de valeur tout en réduisant les coûts et en offrant des opportunités économiques prometteuses.

## II.2. Domaines d'innovation :

Les points novateurs de ce projet incluent les éléments suivants :

- ✓ Les étapes de production utilisent des techniques qui améliorent l'efficacité du processus de fabrication. La particularité de cette technologie réside dans son efficacité exceptionnelle dans la fabrication d'acide citrique, avec des niveaux de pureté élevés conformes aux normes internationales
- ✓ Adoption d'une technologie plutôt moderne par rapport aux techniques classiques de fabrication d'acide citrique
- ✓ La production d'acide citrique de haute qualité ouvre la porte à l'entrée de nouveaux marchés tels que l'industrie pharmaceutique et cosmétique
- ✓ La fabrication d'un produit précieux (Acide citrique) à partir des déchets et des sous-produits comme les écorces d'agrumes et la mélasse.



## **Chapitre III : Analyse stratégique du marché**

### **III.1. Le segment du marché :**

#### **✚ Le marché potentiel :**

Tous les entrepreneurs, qu'ils soient petits ou grands, qui utilisent de l'acide citrique dans leurs produits, y compris les fabricants de produits alimentaires, de boissons, de cosmétiques, de produits de nettoyage, de matériel médical et pharmaceutique.

#### **✚ Le marché cible :**

Entreprises industrielles dans le domaine de l'alimentaire, de la cosmétique et du médicament.

Ce marché est ciblé car ces entreprises utilisent de l'acide citrique dans les processus de fabrication de leurs produits en grande quantité.

- ✓ Possibilité de conclure des contrats d'achat avec plusieurs institutions industrielles, y compris des usines de production de jus d'agrumes et de sucre.

### **III.2. Mesure de l'intensité de la concurrence :**

Les principaux concurrents sur le marché algérien produisent principalement des substances chimiques y compris l'acide citrique, et qui sont classés suivant leur part de marché comme suit :

- ✚ GLOBAL ENGINEERING TRUSTED TEAM, SARL : Cette société se concentre sur la fourniture de produits de qualité sur le marché local tels que : les acides organiques ; et se distingue par sa coopération avec des entreprises internationales pour développer ses produits
- ✚ GROUPE FLY CHEMICALS, EURL : Elle fait partie des sociétés spécialisées dans la distribution de produits chimiques et de matériaux industriels, dont l'acide citrique. L'entreprise détient une bonne part de marché local grâce à sa capacité à fournir divers produits chimiques
- ✚ IMPORTATEURS : Produits importés d'Europe, d'Asie et de Chine
- ✚ ENTREPRISES MONDIALES : telles que Cargill, Archer Daniels Midland et Jungbunzlauer, qui ont une forte présence sur les marchés mondiaux de produits

chimiques, y compris en Afrique du Nord. Ces entreprises ont une part de marché importante en Algérie à travers les importations ou à travers des partenariats.

➤ Points forts :

- Ancienneté sur le marché, force et réputation de la marque
- Des partenariats de coopération solides avec des entreprises internationales de renommé, qui soutiennent leur capacité à fournir des solutions intégrées
- Offre une large gamme de produits chimiques qui répondent aux divers besoins du marché.

➤ Points faibles :

- Dépendant fortement des importations, qui sont affectées par les fluctuations du marché mondial et les coûts d'expédition
- Services d'expédition et de livraison lents
- La majorité des entreprises produisant de l'acide citrique en Algérie se concentrent sur la distribution plutôt que sur la production, ce qui limite leur capacité à proposer des produits nouveaux et innovants
- Les entreprises qui produisent elles-mêmes de l'acide citrique dépendent des importations de matières premières, ce qui les rend vulnérables aux fluctuations des prix mondiaux des produits chimiques.

### III.3. Les stratégies marketing :

- Mettre en avant l'utilisation d'écorces d'agrumes et de mélasse de canne à sucre comme matières premières naturelles et respectueuses de l'environnement, ce qui peut attirer les entreprises intéressées par la durabilité
- Construire un réseau de distribution solide qui garantit que le produit atteint les clients le plus rapidement possible à moindre coût.
- Utiliser la publicité en ligne et dans les médias pour promouvoir le produit, en mettant l'accent sur des caractéristiques uniques telles que la durabilité et la haute qualité à des prix compétitifs
- Proposer des programmes de fidélité aux clients assidus afin de les inciter à persévérer dans leur achat du produit, car le client est placé au-dessus de tout.

## *Chapitre IV : Plan de production et d'organisation*

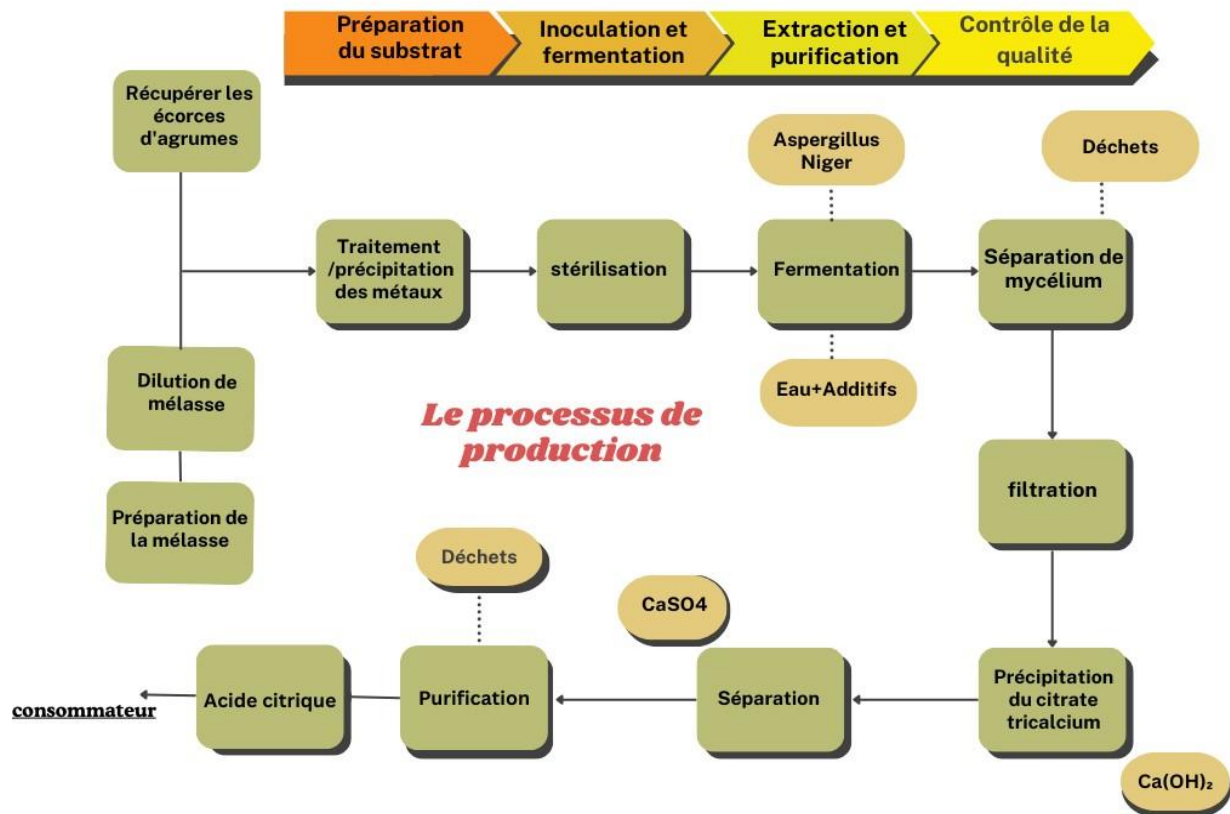
### **IV.1. Processus de production :**

Le processus de production se divise en différentes étapes principales :

- ✚ **Préparation des matières premières** : Collecte et préparation des matières premières nécessaires à la fabrication de l'acide citrique (les écorces d'agrumes, la mélasse, les champignons d'Aspergillus Niger, eau et additifs). Ensuite, les substrats (écorces d'agrumes et mélasse) sont soumis à des tests et des mesures afin de garantir leur qualité et d'éliminer toutes les impuretés et les matières indésirables qui pourraient altérer la pureté et la qualité du produit final
- ✚ **Inoculation et fermentation** : Le milieu préparé est inoculé au préalable à l'aide de spores de micro-organismes, à savoir l'Aspergillus Niger préparés dans des conditions de croissance appropriées. Les équipements et matériaux sont ajustés en fonction des conditions adéquates de fermentation, les mesures nécessaires étant effectuées en permanence pour améliorer la productivité
- ✚ **Extraction, Séparation et purification** : L'extraction de l'acide citrique commence par la séparation en isolant le mycélium du milieu de culture par filtration. Après, La solution résultante est purifiée par chauffage puis mélanger avec de la chaux (Ca (OH)) pour former un précipité de citrate Calcium ; lequel est séparé par filtration et traité avec de l'acide sulfurique dilué. Cela conduira à précipiter l'acide citrique pour former des cristaux qui sont récupérés par centrifugation puis séchés.
- ✚ **Mesure et analyse d'acide citrique** : L'acide citrique est mesuré et analysé pour déterminer leur qualité, leur pureté et leurs propriétés physico-chimiques à l'aide de techniques spéciales.
- ✚ **Emballage et stockage** : L'acide citrique est emballé dans des contenants appropriés et sécurisés pour préserver leur qualité et le protéger contre la contamination. Ensuite, l'acide est conservé dans des espaces de stockage

adéquats. Et en fin, les opérations de distribution sont planifiées afin de garantir la livraison des produits en parfaite état et dans les délais prévus.

Le schéma ci-dessous présente les principales étapes de la production :



## IV. 2. Approvisionnement :

- ✚ Dans le processus d'achat de matières premières, on s'adressera directement aux entreprises alimentaires qui ont des écorces d'agrumes, aux agriculteurs locaux et à ceux qui sont actifs dans le domaine de l'utilisation des agrumes, qui engendrent inévitablement les écorces nécessaires. Puis aux entreprises de sucreries qui produisent de la mélasse. En communiquant directement avec les fournisseurs locaux est un avantage concurrentiel, car permettant de déterminer les spécifications et les quantités des matériaux nécessaires assurant ainsi l'obtention du produit approprié au bon moment.
- ✚ Le délai précis de livraison des matières premières nécessaires (prix, quantité, délai de livraison, etc.) est déterminé afin de faciliter les ventes et assurer la continuité.

- ✚ Après avoir reçu les matières premières, il est nécessaire de les stocker de manière sécurisée et pratique. Il est essentiel de garantir des conditions de stockage adéquates, température et humidité adéquates, afin de préserver la qualité des matériaux.
- ✚ Communication directe avec les fournisseurs (de matière première, de produits chimiques et de maintenance...) en concluant des contrats d'achat.
- ✚ Explorer les opportunités de coopération avec les associations agricoles locales pour soutenir les pratiques agricoles durables.
- ✚ S'adopter au mode de paiement dès réception en interagissant directement avec le client, ce qui aide également à établir des relations à long terme en gagnant leur confiance. On doit aussi être à l'écoute de leurs commentaires et suggestions afin de répondre en permanence à leurs attentes.

#### ❖ **Stratégie d'achat**

- Déterminer la quantité de matières premières nécessaire en fonction des prévisions de production.
- Organiser périodiquement les opérations d'achats pour assurer la disponibilité continue des matières premières.
- Utilisez un système de gestion des stocks pour contrôler les niveaux de stock et réduire les pertes et le gaspillage.

### **IV.3. La main d'œuvre :**

Le rôle des travailleurs humains dans le projet de production d'acide citrique est essentiel, requiert une équipe de travail compétente avec un formateur pour effectuer les différentes tâches. Ce projet crée entre 5 et 6 postes d'emploi permanents et nécessite des ingénieurs en Génie chimiques pour superviser le processus de production. Et d'un expert en biochimie ayant une expérience dans la culture de champignons dans des milieux et conditions appropriés, en plus d'un spécialiste en gestion de la qualité et d'un comptable qualifié.

L'équipe de travail doit réaliser diverses opérations, notamment :

#### ✚ **Gestion et planification :**

- Définir les objectifs du projet et établir des plans pour les atteindre.
- Préparation des matières premières pour la production d'acide citrique.
- organiser et planifier les opérations et les ressources.

- Suivre l'avancement du projet et prendre les mesures nécessaires pour l'améliorer.

#### **Scientifiques et chercheurs :**

- Mener des études et des recherches pour améliorer et développer ce produit.
- Analyser les données et évaluer l'efficacité des matériaux et leur impact sur la production.
- Développer de nouvelles technologies et proposer des solutions innovantes dans ce domaine

#### **Techniciens et ingénieurs :**

- Opérer les équipements et les appareils utilisés dans le processus de production.
- Assurer la maintenance des équipements et effectuer les réparations nécessaires.
- Surveiller les paramètres du processus tels que la température et la pression, et garantir un fonctionnement correct.

#### **Contrôle qualité, sécurité et environnement :**

- Effectuer des tests de qualité sur les produits et les matériaux utilisés.
- Surveiller les normes et les spécifications et garantir leur conformité.
- Analyser les données et fournir des rapports sur la qualité des produits.

#### **Équipe Marketing et Ventes :**

- Analyser les besoins du marché et des clients dans le domaine de la production d'acide citrique.
- Développer des stratégies de marketing et de promotion pour l'acide citrique.
- Négocier et conclure des contrats de vente avec les clients et partenaires.

### **IV.4. Partenariats clés :**

Notre projet nécessite des partenariats majeurs avec les fournisseurs de matières premières pour les écorces d'agrumes et la mélasse, ainsi qu'avec les entreprises alimentaires et cosmétiques, les fabricants de produits pharmaceutiques et de produits de nettoyage, car ils sont des consommateurs constants.

## *Chapitre VI : Plan financier*

### **VI.1. Les coûts et les charges :**

- ❖ **Coût de production d'une quantité de 7400 kg d'acide citrique en une année entière :**

*Tableau 1 : Coûts et les charges*

<b>Coûts et besoins du projet</b>	<b>Qté</b>	<b>Prix unitaire (DA)</b>	<b>Le prix (DA)</b>
<b>Ecorces d'agrumes</b>	148000(kg)	50	74 000,00
<b>Mélasses</b>	100000(L)	100	100 000,00
<b>Petit équipements de laboratoire</b>	....	400 000,00	400 000,00
<b>Bioréacteur</b>	1	3 700 000,00	3 700 000,00
<b>Autoclave</b>	1	350 000,00	350 000,00
<b>Broyeur</b>	2	15 900,00	31 800,00
<b>Etuve</b>	1	190 000,00	190 000,00
<b>Machine de filtration</b>	1	300 000,00	300 000,00
<b>Réfractomètre</b>	1	150 000,00	150 000,00
<b>Electricité, eau</b>	....	138 000,00	138 000,00
<b>Transport</b>	....	240 000,00	240 000,00
<b>Emballage</b>	....	77 000,00	77 000,00
<b>Coût du main-d'œuvre</b>	....	2 520 000,00	2 520 000,00
<b>Prix de location</b>	....	720 000,00	720 000,00
<b>Total</b>	....	...	8 990 800,00

✓ **Méthodes et sources de financement :**

- Agence nationale d'appui et de développement de l'entrepreneuriat " NESDA " 25%
- Prêt bancaire 70%

- Finances personnelles 5%
- Possibilité de développer un partenariat avec un investisseur externe qui partagerait. Cela engloberait l'investissement en capital ou d'autres formes de partenariat financier.

✓ **Méthode de récupération des fonds :**

- En vendant le produit final, en élargissant l'activité à d'autres produits et fidélisant une clientèle solide, contribuera à la récupération de l'investissement initial et à la rentabilité continue de l'entreprise.

**VI.2. Numéro d'affaires (scénario optimiste) :**

	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
<b>Quantité de produit (kg)</b>	7400	8700	14800	22000	29600	37000
<b>Prix HT produit (DA/kg)</b>	294.12	294.12	294.12	294.12	294.12	294.12
<b>Ventes produit (DA/kg)</b>	350	350	350	350	350	350,00
<b>Chiffre d'affaires global (DA)</b>	2 590 000,00	3 045 000,00	5 180 000,00	7 770 000,00	10 360 000,00	1 2950 000,00

 **Tableau des paiements :**

	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
<b>Coûts de production</b>	1 903 000,00	3 012 915,00	3 395 946,00	4 262 000,00	5 900 000,00
<b>Chiffre d'affaires global</b>	3 045 000,00	5 180 000,00	7 770 000,00	10 360 000,00	12 950 000,00
<b>Bénéfice net</b>	1 142 000,00	2 797 085,00	4 304 054,00	6 098 000,00	7 050 000,00



### VI.3. Numéro d'affaires (scénario pessimiste) :

	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
<b>Quantité de produit (kg)</b>	5700	6800	8100	14000	16400	20000
<b>Prix HT produit (DA/kg)</b>	294.12	294.12	294.12	294.12	294.12	294.12
<b>Ventes produit (DA/kg)</b>	350,00	350,00	350,00	350,00	350,00	350,00
<b>Chiffre d'affaires global (DA)</b>	1 995 000,00	2 380 000,00	2 835 000,00	4 900 000,00	5 740 000,00	7 000 000,00

## *Chapitre VI : Prototype expérimental initial*

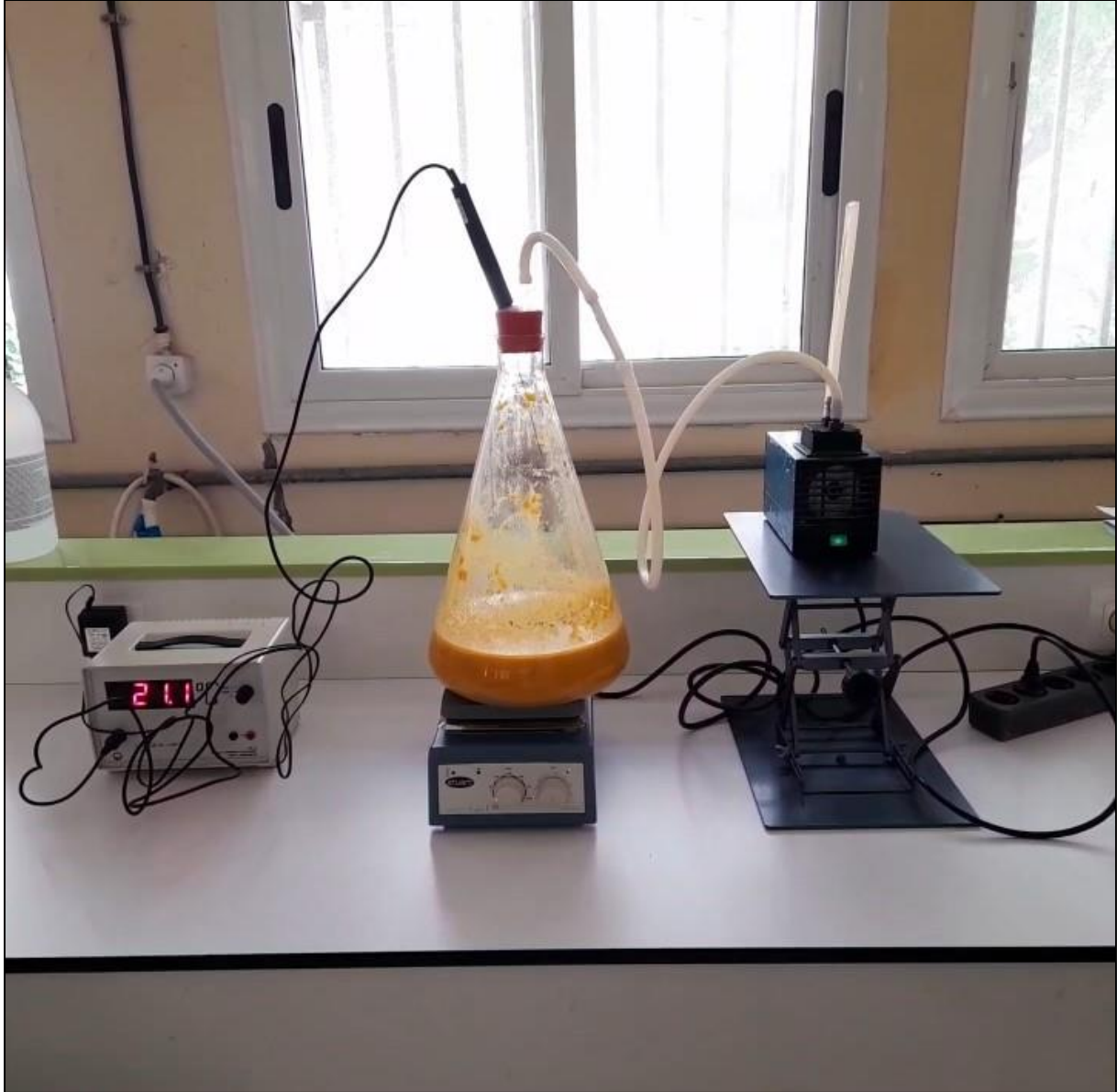
### **VI.1. Prototype expérimental :**

Un prototype correspond à une première version fonctionnelle d'une entreprise en cours de création. C'est un exemple concret de l'idée commerciale et du modèle d'entreprise envisagés. Un prototype a pour but principal de collecter des commentaires, d'acquérir des connaissances des utilisateurs potentiels et de confirmer les hypothèses fondamentales. Grâce à l'utilisation du prototype, il est possible de perfectionner et d'améliorer notre produit ou service en se basant sur les retours d'expérience, dans le but d'améliorer sa pertinence et son attrait sur le marché. Il convient de souligner que le prototype représente une étape initiale dans le processus de développement de notre société. Le produit ou le service n'est pas encore finalisé, mais il constitue plutôt une preuve de concept et une base pour guider nos prochaines étapes de développement.

On a obtenu ce premier produit en réalisant plusieurs expériences et en cherchant à chaque fois à améliorer les conditions nécessaires, en fermentant des écorces et de la mélasse d'agrumes avec le champignon *Aspergillus Niger*. Et en suivant une série de procédés et de mesures, on a obtenu ce premier modèle, qui témoigne de la possibilité d'appliquer l'idée.



*Acide Citrique*



*Production d'acide citrique à partir de la fermentation d'écorces d'agrumes et de  
mélasse*

## VI.2. Business model Canvas :

<b>Partenaires clés</b>	<b>Activités Clés</b>	<b>Propositions de valeur</b>	<b>Relation Client</b>	<b>Clients</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Agriculteurs locaux</li> <li>- Entreprises utilisant des agrumes</li> <li>- Fournisseurs de mélasse</li> <li>- Biologistes</li> <li>- Sociétés d'emballage et d'expédition</li> <li>-Laboratoires d'essais de qualité</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vente d'écorces d'agrumes chez des agriculteurs locaux et des usines qui utilisent des agrumes.</li> <li>- Acheter de la mélasse aux sucreries</li> <li>- Nettoyage et traitement des écorces d'agrumes et de la mélasse</li> <li>- Cultiver des champignons aspergillus noirs</li> <li>- Fermentation des écorces d'agrumes et de la mélasse à l'aide de champignons</li> <li>- Traitement et extraction de l'acide citrique du mélange fermenté</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production d'acide citrique à partir de matières premières naturelles de haute qualité provenant de sources durables</li> <li>-Minimiser les déchets agricoles en utilisant les pelures d'agrumes</li> <li>- Réduire les coûts en utilisant des matières premières peu coûteuses telles que les écorces d'agrumes et la mélasse</li> <li>-Soutenir les agriculteurs locaux en achetant des écorces d'agrumes</li> <li>-Satisfaire la demande grandissante d'ingrédients naturels dans les secteurs</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Fournir un support technique et consultative</li> <li>-Collecter les avis des clients afin d'améliorer les produits et les services</li> <li>-Créer des liens forts avec les Clients</li> <li>-Innovation et adaptation permanentes</li> <li>-Offrir des programmes de loyauté et de gratifications</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Entreprises agroalimentaires et de boissons</li> <li>-Entreprises de cosmétiques et de soins personnels</li> <li>- Sociétés pharmaceutiques</li> <li>-Fabricants de détergents et de produits chimiques</li> <li>-Entreprises à la recherche d'alternatives durables aux ingrédients synthétiques</li> </ul>

	<p>-Épuration et emballage de l'acide citrique</p> <p>- Promouvoir le produit et étendre le marché.</p>	<p>agroalimentaire et pharmaceutique</p> <p>-Proposer une alternative à l'acide citrique artificiel fabriqué à partir de matières premières pétrolières.</p>		
	<p><b>Ressources clés</b></p>		<p><b>Canaux</b></p>	
	<p>-Ecorces d'agrumes</p> <p>-Mélasse</p> <p>-Champignon Aspergillus Niger</p> <p>-Installations de production</p> <p>-Équipements et machines utilisés pour la fermentation</p> <p>-Equipement de traitement</p> <p>-Employés de production</p> <p>-Canaux de distribution et partenariats avec les clients</p>		<p>-Ventes directes aux entreprises</p> <p>-Distribution par des distributeurs de matières premières</p> <p>-Participation à des foires commerciales et à des conférences</p> <p>-Marketing en ligne</p>	

<b>Coûts</b>	<b>Revenus</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>-Coût d'achat des écorces d'agrumes</li><li>-Coût de la mélasse</li><li>-Coût d'Aspergillus Niger</li><li>-Montant de production</li><li>-Coût d'emballage et d'expédition</li><li>- Coûts des infrastructures</li><li>-Salaires des employés</li><li>- Frais de recherche</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Vendre le produit final, l'acide citrique</li><li>-Vente de sous-produits issus du processus de fabrication</li><li>-Entreprises communes avec de grandes sociétés</li><li>-Produire de nouveaux produits</li></ul>