

BIOPRODUCTION : FABRICATION D'ETHANOL PAR FERMENTATION



T.P. N° 5

Objectif d'apprentissage : Préparer, organiser, conduire et effectuer le suivi (relevés, rapport d'opération, analyses) d'une fermentation en respectant les règles spécifiques d'asepsie liées à une bio-production.

MANIPULATION :

Objectifs de production : Fabriquer 5 Kg de jus sucré alcoolisé.

Principe : Stérilisation de la cuve du fermenteur. Fermentation alcoolique de 5 Kg de solution aqueuse de saccharose à 10% par la levure *saccharomyce cerevisiae* (levure de bière, levure de boulanger..).

Appareillage : Pilote de fermentation ; filtre buchner.

Techniques d'analyse Réfractométrie, densimétrie.

Réactifs - Produits : Saccharose, levure de bière - éthanol.

HSE :

Hygiène : Interdiction de boire et de manger en atelier. Port des gants pendant la manipulation. Se laver les mains **avant** et après la manipulation. Maintenir un environnement de travail propre.

Sécurité :

- Port des protections individuelles en atelier (vêtements de protection, gants, lunettes).
- Maintenir rangé l'environnement du poste de travail.
- Risque produit : néant
- Risque matériel :
 - o électrique : ne pas ouvrir l'armoire électrique.
 - o thermique : éviter tout contact direct avec les parties chaudes de l'appareil (vapeur)
 - o mécanique (agitation) : attacher les cheveux longs, pas de vêtements flottants. Ne pas introduire d'éléments autres que les produits dans la cuve.
- Risque procédé : néant



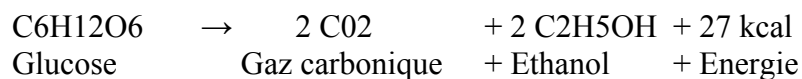
Environnement : Le jus alcoolique produit est stocké pour être distillé ultérieurement et récupérer l'éthanol avant d'éliminer le reste du jus à l'égout.

CE QU'IL FAUT SAVOIR:

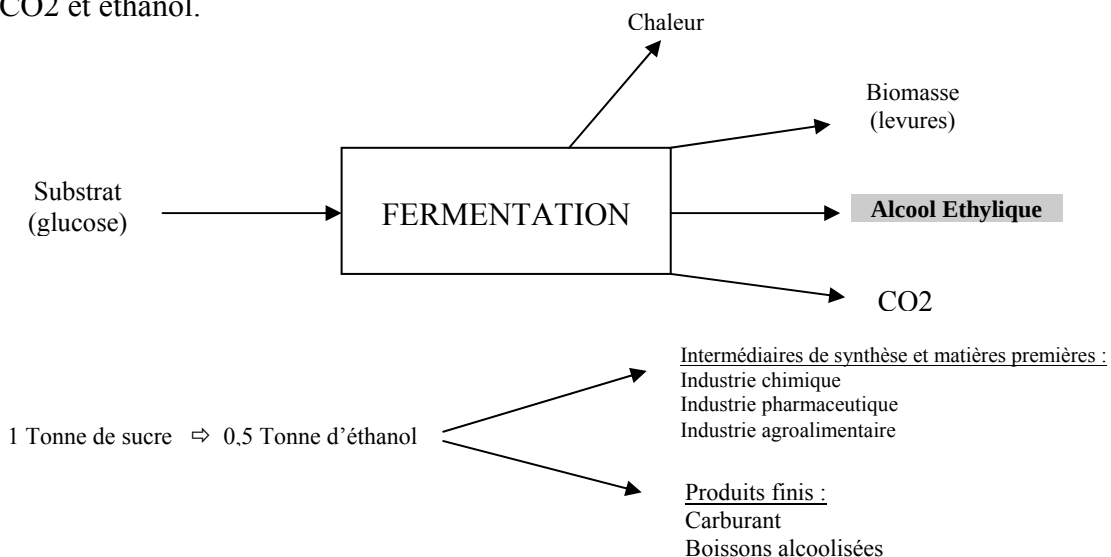
Production d'éthanol par fermentation alcoolique du saccharose par la levure *Saccharomice cerevisiae* :

Le saccharose (sucre de la betterave à 12 atomes de carbone) est hydrolysé en glucose (sucre à 6 atomes de carbone) grâce aux enzymes de la levure.

En l'absence d'air (en anaérobie), la levure met en œuvre un métabolisme fermentatif qui conduit à la formation de gaz carbonique, d'éthanol et d'un peu d'énergie :



En fermentation anaérobie 95% des sucres consommés par la levure sont transformés en CO₂ et éthanol.



MODE OPERATOIRE :

Stérilisation du fermenteur :

- Réaliser la stérilisation du fermenteur en (voir dossier technique).
- Dès que V9 est fermée (voir procédure du dossier technique) **Compléter toutes les 10 minutes** pendant 1h le tableau de suivi de la stérilisation.
- Arrêter la stérilisation (voir dossier technique)

Préparation des réactifs :

- Nettoyer à l'asepto-liquide un décalitre, un entonnoir d'atelier, un bécher métallique de 1L, un bécher en verre de 250 mL et une spatule. Rincer abondamment.
- Peser 4,5 Kg d'eau dans le décalitre nettoyé.
- Charger par gravité l'eau dans la cuve du fermenteur en utilisant l'entonnoir nettoyé.
- Lancer l'agitation à 10 trs/min
- Réguler la température du fermenteur à 30°C (voir dossier technique).
- Peser dans le bécher métallique 0,5 Kg de saccharose.
- Charger le sucre petit à petit par gravité dans la cuve en utilisant l'entonnoir et la spatule.
- Effectuer un recyclage d'environ ½ L par la vanne de fond de cuve avec le bécher métallique nettoyé.
- Laisser sous agitation pendant 10 minutes.
- Prélever environ 500 mL de solution sucrée par la vanne de fond. Vérifier que le sucre est complètement dissous (sinon, recycler à nouveau).
- Peser dans le bécher en verre 20 g de levure séchée. (utiliser la spatule nettoyée pour prélever la levure).
- Introduire la levure dans le bécher métallique avec la solution sucrée et mélanger avec la spatule jusqu'à obtention d'une suspension homogène.
- Introduire la suspension de levure par gravité dans le réacteur.

Fermentation :

- Isoler l'intérieur de la cuve de l'air extérieur en fermant les vannes A5, 8, 10 (voir dossier technique). Ne laisser ouvert que la vanne A6 de dégazage du CO₂.
- Conduire la fermentation pendant 3h.
- **Toutes les 20 minutes**, compléter le tableau de suivi de la fermentation. Indiquez dans la colonne remarque l'heure de début de bullage (dégagement de CO₂)

Filtration :

- Peser 200 g de célite
- Sous agitation, en vous aidant d'un entonnoir, introduire la célite par le trou de poing dans la cuve.
- Vider la suspension dans un décalitre.
- Filtrer la suspension sur filtre Buchner.

Pesées, contrôles et stockage des produits :

- Peser le gâteau puis l'éliminer à la poubelle.
- Peser le jus filtré.
- Mesurer sa température et sa masse volumique (feuille quantité)
- Qualifiez l'odeur du jus (compléter le tableau de produits finis)
- Qualifiez la clarté du jus : clair, opalescent, trouble. (tableau de produits finis)
- Mesurer le taux de sucres au réfractomètre. (tableau de produits finis)
- **Après accord de l'enseignant**, stocker le jus dans le bidon étiqueté « jus éthanolique de fermentation ».

Nettoyage :

- Nettoyer l'extérieur du poste en respectant la procédure du dossier technique.
- Compléter et faire valider le tableau de nettoyage par le binôme gestion

COMPTE-RENDU :

Pendant la manipulation :

Rédiger le rapport d'opération, **compléter la feuille quantités** (masses), compléter les tableaux de suivi.

Conduite des installations et/ou réaction en cas de dysfonctionnement :

Complétez le tableau dysfonctionnements (voir documents de suivi).

Analyse qualité produit et assurance qualité :

Complétez les tableaux « produits finis » (voir documents de suivi).

Exploitation des résultats :

Directement sur la feuille quantités :

- Calculer le rendement massique global de l'ensemble de la manipulation
- Calculer (dans le cadre « rendements spécifiques ») l'atténuation du taux de sucre en fin de fermentation :

$$Attenuation = \frac{E - E_a}{E} \times 100$$

E = Taux de sucres dans la solution initiale ; E_a = Taux de sucres dans les jus de fermentés

Sur le même graphe (voir documents de suivi) : tracer les courbes du taux d'oxygène et du pH en fonction du temps.

Analyse conclusion :

- Pourquoi stérilise-t-on avant la fermentation ?
- Quelle est la fonction de l'adjuvant dans la filtration ?
- Sur les courbes observez-vous une diminution du pH et du taux d'oxygène ? Comment peut-on expliquer ces diminutions pendant la fermentation ?