

Utilisation des déchets de distillerie d'alcool pour la culture des levures de fourrage

Yaou Innocent BOKOSSA* et Fatlou TOUKOUROU

Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires, Faculté des Sciences et Techniques,
Université d'Abomey-Calavi, B.P 36 Abomey-Calavi, (BÉNIN)

Reçu le 20 Janvier 2003, corrigé reçu le 20 Octobre 2003, accepté le 19 Mars 2004

Abstract

The vinasse (schlempe) is the one of the two most important scraps of the alcohol's distillery. After its chemical characterization, it is used as culture medium for the production of fodder's yeast. Among the thirteen strains of microorganisms which are used, only *Candida utilis* P1 and *Trichosporon fermentans* 4321 give the very satisfied results upon an industrial level. Their yield in biomass calculated in weight by wet cells is respectively 29,2 g/dm³ and 58,80 g/dm³. These results are interesting for industrial utilization of vinasse like raw materials obtained from the distillation of sugar cane molasses. This proposition is sustained in fact that the content in protein of those biomasses (51,6% and 52,8%) is in the limit of the standards demanded in the production of the yeast of fodder. The strain *Trichosporon fermentans* 4321 can be considered as an industrial strain for the production of a complement of the food rich in protein for the livestock.

Keywords: Fermentation, vinasse, yeast, fodder, alcohol.

Résumé

La vinasse (schlempe) est l'un des deux plus importants déchets de la distillerie d'alcool. Après sa caractérisation chimique, elle est utilisée comme milieu de culture pour la production des levures de fourrage. Treize souches de microorganismes sont utilisées dont seules les souches *Candida utilis* P1 et *Trichosporon fermentans* 4321 donnent des résultats très satisfaisants sur le plan industriel. Leur rendement en biomasse calculée en poids par cellules humides est respectivement de 29,2 g/dm³ et 58,8 g/dm³. Ces résultats sont intéressants pour une utilisation industrielle de la vinasse d'alcool comme matière première obtenue après distillation de la mélasse de canne à sucre. Cette proposition est soutenue par le fait que la teneur en protéine de ces biomasses (51,6% et 52,8%) est dans la limite des normes exigées dans la production des levures de fourrage. La souche *Trichosporon fermentans* 4321 peut être considérée comme une souche industrielle pour la production d'un complément d'aliment riche en protéine pour le bétail.

Mots clés : Fermentation, vinasse, levure, fourrage, alcool.

* Auteur pour toutes correspondances, e-mail : ybokossa@bj.refer.org

1. Introduction

Dans les distilleries d'alcool, après la fermentation, la distillation et la rectification, on obtient un mélange de déchets composé d'une fraction liquide et d'une fraction solide. La partie liquide est essentiellement composée d'eau. Elle est appelée vinasse d'alcool ou schlempe. La partie solide représente la biomasse des microorganismes qui ont servi à la fermentation. Si ces déchets ne sont pas traités ou éliminés, ils constituent de véritables polluants pour l'écosystème (Magnus, 1981; Bokossa & Rochkova, 1991).

Beaucoup de travaux sont effectués sur le traitement des sous produits des usines de distillerie (Bokossa & Rochkova, 1991; Brouwers *et al.*, 1999). Cependant l'élimination complète et la revalorisation des sous produits restent une préoccupation majeure, notamment en ce qui concerne l'utilisation biotechnologique éventuelle de la vinasse à partir de la culture des microorganismes en vue d'obtenir des produits biologiquement actifs pour lutter contre la carence de protéines dans l'alimentation animale (Rha, 1973; Rochkova *et al.*, 1986; Bedmarski et Yeman, 1987; Bokossa, 1993).

Ainsi la biomasse des levures du genre *Saccharomyces cerevisiae* obtenue après fermentation d'alcool peut être désintégrée ou concentrée (Rha, 1973; Kirk-Othmer, 1975; Chao *et al.*, 1980; ComoV *et al.*, 1982; Rochkova *et al.*, 1986). La vinasse d'alcool peut être utilisée comme eau pour préparer du béton dans la maçonnerie parce qu'elle confère à ce béton une grande solidité à cause de ses constituants physico-chimiques (Lewiscki, 1977; Koshy & DAHIYA, 1984). La vinasse peut être incinérée et l'énergie récupérée être utilisée pour

la distillation de l'alcool (MAGNUS, 1981). La vinasse d'alcool est un déchet qui exige pour sa dégradation, une quantité importante d'oxygène. De fait, un traitement préalable de cette vinasse est indispensable avant son rejet dans la nature.

La présente étude vise à réduire la Demande Chimique en Oxygène (DCO) nécessaire à la dégradation de la vinasse d'alcool afin d'atténuer les risques de pollution qu'elle représente.

2. Matériel et méthodes

Matériel biologique

L'expérimentation a porté sur les 13 champignons suivants appartenant aux genres *Candida*, *Trichosporon* et *Saccharomyces*.

(1) *Candida tropicalis* 2137; (2) *Candida tropicalis* 213; (3) *Candida tropicalis* 214; (4) *Candida tropicalis* R - 705; (5) *Candida utilis* 2622; (6) *Candida utilis* 2627; (7) *Candida utilis* 2630; (8) *Candida utilis* P1; (9) *Candida utilis* 01; (10) *Trichosporon fermentans* 4321; (11) *Saccharomyces cerevisiae* 0577; (12) *Saccharomyces cerevisiae* 0024; (13) *Saccharomyces cerevisiae* 0002.

Milieux de culture

Deux milieux de culture ont été utilisés :

- Vinasse avec 5% de matières sèches sans autre additif
- Vinasse avec 5% de matières sèches enrichie de sels d'urée (1,8 g/dm³) et de KH₂PO₄ (0,9 g/dm³). Le pH des deux milieux de vinasse est ajusté à 4,8 par une solution de 20% de H₂PO₄.

La culture des microorganismes est réalisée dans des ballons de 500 cm³ contenant 100 cm³ de milieu de culture. Les ballons contenant ces milieux de culture sont

stérilisés à 120°C pendant 30 mn sous une pression de 0,6 bar dans un autoclave. Ils sont placés après refroidissement et ensemencement sur un agitateur rotatif de -20 rad/s à une température de 30°C pendant 36h.

Méthodes

Les matières sèches ont été déterminées par la méthode réfractométrique de ABBE (IVANOV et al., 1979); les sucres réducteurs par la méthode de LUFF-SCHOORL (OSBORNE et VOGT, 1978; AACC, 1983); l'azote total par la méthode de KELDAL et les cendres (comme les sulfates) par la méthode AOAC (AOAC, 1984); puis la demande chimique en oxygène (DCO) et le phosphore (P2O5) par la méthode de bichromate (IVANOV et al., 1979). Toutes les expériences ont été répétées trois fois.

Tableau 1: Composition chimique de la vinasse d'alcool

N°	Désignation	Teneur %
1	Matières sèches	9,00
2	Cendres	3,00
3	Sucres réducteurs	1,50
4	Glycérine	0,50
5	Azote total (par rapport à la mat. sèche)	2,40
6	Corps volatils	4,00
7	P ₂ O ₅ - (par rapport à la mat. sèche)	0,80

Tableau 2: Culture des souches de levures de fourrage

N°	Désignation des souches	Rendement biomasse (g/dm ³)		Teneur* protéine %
		VSS	VAS	
1	<i>Candida tropicalis</i> 2137	2,4	6,21	53,12
2	<i>Candida tropicalis</i> 2143	3,6	6,7	47,50
3	<i>Candida tropicalis</i> 2145	2,2	7,26	53,00
4	<i>Candida tropicalis</i> R70	2,5	7,21	48,60
5	<i>Candida utilis</i> 2622	2,5	6,57	45,40
6	<i>Candida utilis</i> 2627	2,2	6,96	48,20
7	<i>Candida utilis</i> 2630	3,4	7,0	52,20
8	<i>Candida utilis</i> PI	4,0	7,29	51,60
9	<i>Candida utilis</i> O1	2,8	6,91	49,50
10	<i>Trichosporon fermentans</i> 4321	6,0	14,71	52,80

VSS : Vinasse sans sel ; VAS : Vinasse avec sel

(*) Teneur en protéine N x 6,21

3. Résultats et discussions

L'analyse chimique de la vinasse d'alcool (Tableau 1) fait apparaître une quantité importante (9,0%) de matières sèches dont 6,0% sont constitués de substances réductrices, de glycérines et de corps volatils. La dégradation de ces corps organiques nécessite beaucoup d'oxygène. La vinasse contient en outre de l'azote (2,4%) et du phosphore (0,8%) qui sont des éléments nutritifs stimulateurs de croissance des microorganismes. Ces résultats suggèrent que la vinasse d'alcool peut être utilisée comme milieu de culture de différentes espèces de levures. Toutefois le caractère polluant de cette vinasse est lié à sa grande demande chimique en oxygène.

Dans la quantité relativement importante de déchets (90%) jetée dans la nature par les distilleries béninoises, la DCO est définie à 90.000 mg O₂/dm³ (BOKOSSA, 1993). Cette valeur est largement supérieure à la norme internationale qui est fixée pour les eaux entre 100 à 1000 mgO₂/dm³ (BOKOSSA, 1993).

La composition chimique de la vinasse paraît appropriée pour la culture de levures. Ainsi deux séries de culture ont été réalisées, l'une en milieu enrichi en sel et l'autre en milieu dessalé. Il ressort (Tableau 2) que d'une manière générale, les treize souches de levures cultivées se développent plus faiblement sur du milieu vinasse sans sels que sur du milieu vinasse avec sels. Selon le genre, la quantité de biomasse de microorganismes varie entre 2,20 et 4,00 g/dm³ chez les *Candida*, mais atteint 6,00 g/dm³ chez *Trichosporon fermentans* 4321 sur du milieu sans sels.

Bien que les performances obtenues avec *Trichosporon fermentans* 4321 (6,00 g/dm³) soient meilleures, cette valeur

est à la limite de la norme et ne donne pas une entière satisfaction dans la pratique. En effet, la norme exigée de l'Etat bulgare conforme à celle de l'Europe au plan industriel, est au moins de 24 g/dm³ de biomasse humide avec 75 % d'eau (BOKOSSA, 1993). Dans ces conditions la vinasse d'alcool sans sels ne paraît pas rentable pour la culture industrielle des levures.

Lorsque ces mêmes microorganismes ont été cultivés sur le milieu de vinasse enrichi de sels d'azote et de phosphore, les souches *Candida utilis* P1 et *Trichosporon fermentans* 4321 se distinguent particulièrement avec un rendement de biomasse en poids sec de 7,29 g/dm³ pour le premier et 14,71 g/dm³ pour le second. Ces quantités de biomasse exprimées en poids humide sont respectivement de 29,20 g/dm³ et 58,80 g/dm³. Par ailleurs les teneurs en protéines obtenues avec ses souches sont respectivement de 47,50% et 53,00%. Ces valeurs sont conformes aux normes internationales exigées dans la production industrielle des levures de fourrage (BOKOSSA, 1993).

La demande chimique en oxygène de la mélasse de canne à sucre du Bénin comme matière première était de 140.000 mgO₂/dm³ (Tableau 3). Après son utilisation pour la fermentation d'alcool, cette demande tombe à 90.000 mg/dm³. Ces résultats suggèrent donc que l'organisation d'une production industrielle de levures de fourrage utilisant la vinasse d'alcool provenant de la mélasse est possible. Cependant, une trop grande concentration du milieu de culture au delà de 5% pourrait constituer un facteur inhibiteur de la croissance de ces levures.

Par ailleurs pour mieux suivre la diminution des risques de pollution de la vinasse

d'alcool, des cultures de levures de pain et de fourrage ont été réalisées (Tableau 3). Ainsi la diminution atteinte avec la souche *Candida tropicalis* 2145 est de 97,58% avec une DCO de 3.200 mgO₂/dm³ beaucoup plus proche de la norme internationale (BOKOSSA, 1993). Il ressort donc que les levures du genre *Candida* dégradent mieux les constituants de la vinasse. Elles sont moins exigeantes que les *Saccharomyces cerevisiae* qui sont des levures de pain. Par contre, lorsque ces mêmes microbes ont été directement cultivés sur la mélasse de canne à sucre du Bénin qui a une DCO de 140.000 mgO₂/dm³, la diminution de cette dernière n'a pas été aussi significative après 36 heures. Il ressort donc qu'il faut passer par le schéma : mélasse - fermentation d'alcool - culture des levures, pour atteindre une bonne élimination des risques de pollution des déchets de distilleries.

Toutefois la valeur de 3.200 mgO₂/dm³ de DCO obtenue avec la deuxième vinasse est encore élevée par rapport à la norme européenne. De fait, l'utilisation de cette souche en vue d'une production industrielle éventuelle nécessiterait des investigations supplémentaires visant à purifier ou éliminer ce polluant.

Tableau 3: Influence de la culture des levures sur la DCO

N°	Désignation des souches	DCO	Diminution %
1	<i>Candida tropicalis</i> 2143	7,6	94,58
2	<i>Candida tropicalis</i> 2145	3,2	97,58
3	<i>Candida tropicalis</i> 2630	8,0	94,30
4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 0577	9,2	93,58
5	<i>Saccharomyces ellipsoides</i> 0024	14	90,00
6	<i>Saccharomyces ellipsoides</i> 0002	9,6	93,15
7	Mélasse de canne à sucre	140	-

(*) Demande chimique en oxygène (DCO) après culture en gO₂/dm³.

Conclusion

Nos résultats suggèrent que l'utilisation de la mélasse pour la fermentation d'alcool est relativement rentable. La vinasse pourrait être utilisée ensuite pour la culture des levures de fourrage. Le schéma technologique : mélasse - fermentation d'alcool - culture des levures ainsi appliqué a un double avantage. D'une part, il permet d'obtenir des produits de haute valeur ajoutée et d'autre part, il diminue significativement les risques de pollution par la vinasse d'alcool comme déchet. L'organisation d'une production industrielle des levures de fourrage à partir de la vinasse est possible après distillation d'alcool à base de mélasse de canne à sucre de la République du Bénin.

Références

- AACC American Association of Cereal Chemist, (1983). Approved methods of AACC 8 th. Edition. St. Paul MM USA chp 08 - 01. Vol. 1.
- AOAC Association of Official Analytical Chemist, (1984). Official methods of analysis 14th. Arlington, Virginia.
- Bedmarsi W. et Y. Yeman, (1987). Sposob polouche-nie kormovix dobavok is biomass microorganismov Pat. 137314 Publ. 15 - 04 - 1987 MKUA 23K1106 POLSCHA.
- Bokossa Y. I. P., (1993). Etudes des possibilités d'utilisation biotechnologique de la mélasse de canne à sucre en République du Bénin. Thèse de Doctorat de l'Institut Supérieur d'Industrie Alimentaire et Gustative - HIFI de Plovdiv (Bulgarie), pp.153.
- Bokossa Y. I. P. et Z. Rochkova, (1991). Etudes des possibilités d'utilisation de déchets de la biomasse des levures après la fermentation alcoolique à base de la mélasse de canne à sucre du Bénin. Revue des Travaux Scientifiques. Vol. 38 Roll II pp 235-242.
- Brouwers M., J. L. Farinet et E. Hainzelle, (199). Utilisation agricole des sous-produits de la mélasse et fertilisation de la canne à sucre. Agriculture et Développement, 24 : 60-62.
- Chao K. C., E. F. MC Carthy, G. A. MC Conaghy, (1980). Yeast autolysis process USA Pat. N° 4218481 - 1980.
- Comov G., M. Betchkov, B. Nestorova, Z. Rochkova, M. Ilièva, D. Grigorova et E. Dimitrova, (1982). Application des isolats de protéine des levures de pain dans la fabrication des condiments de cuisine. Revue des Matériels MHTKB, HIFI PLOVDIV.
- Ivanov T., S. Gerov, A. Yankov, G. Bambalov, T. Tonchev, D. Hachkov et M. Marinov, (1979). Praktikum po vinarska tehnologia Isdateistvo HRISTO G. DANOV Plovdiv Bulgaria.
- Kirk-Othmer V., (1975). Yeast encyclopedia of food technology 11th Publ. Comp. V. 22 U.S.A., 1975
- KOSHY M. et D. S. DAHIYA, 1984. Further studies on recycling of spent wash in cane molasses distilleries - In proceeding of the 46th annual conversion G. (Sec. FSTA 16, G 11736) pp 685-691
- Lewiscki W., (1977). Introduction into technology application and commercialization of evaporated vinasse slops from cane and beets molasses fermentation industry. - La Sucrierie Belge, 96, 11, pp 421-424.
- Magnus N., (1981). Recuperacion de energia de los residuos de destilarias de melazas. - Alimentaria 127, 18, pp 25-29.
- Osborne D. R. et P. Voogt, (1978). The analysis of nutrients in food. Academic London Press. pp 151-153.
- Rha C. K., 1973. Utilisation of single cell protein for human food - Single cell protein. II cong. 1973 Publ. 587.
- Rochkova Z., M. Ilièva et G. Comov, (1986). Obtention et application de protéine de levures de pain. Industrie Alimentaire. KH.1 PLOVDIV (Bulgarie) pp 24-26.