



## The 1<sup>st</sup> International Conference on Local Resource Exploitation

[www.lorexp.org](http://www.lorexp.org) / [info@lorexp.org](mailto:info@lorexp.org)  
REF: LOREXP\_2021\_A1206 Pages: 697-715



### Réduction de la toxicité de la mélasse de canne à sucre à partir du charbon actif pour la production de la levure boulangère (*saccharomyces cerevisiae*)

#### *Reduction of the toxicity of sugar cane molasses from activated carbon to produce baker's yeast (saccharomyces cerevisiae)*

Nga H. Josianne<sup>1,\*</sup>, Kapseu César<sup>1</sup>, Mbougoueng P. Désiré<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Département de Génie des Procédés et d'Ingénierie, ENSAI, Université de Ngaoundéré, B.P. 455, Ngaoundéré-Cameroun.

\* Auteur Correspondant : [josiannehenriettenga17@gmail.com](mailto:josiannehenriettenga17@gmail.com) ; [johenga@yahoo.fr](mailto:johenga@yahoo.fr)

#### RÉSUMÉ :

La levure boulangère est un champignon unicellulaire utilisé en biotechnologie alimentaire pour la production d'enzymes, d'antibiotiques, des vitamines, des hormones stéroïdiennes, du pain et de la bière. Sa production dépend entre autres, du choix du substrat. En choisissant la mélasse comme substrat de culture pour sa production, c'était en fait un moyen de valoriser un déchet sucrier de l'une des plus grandes sociétés sucrières au Cameroun à savoir, la mélasse de la SOSUCAM. Pour y parvenir, il fallait affronter premièrement le problème de toxicité de la mélasse de canne à sucre, qui contiendrait des inhibiteurs de croissance des levures tels que les nitrites. D'où l'option du traitement de la mélasse au charbon actif afin d'optimiser le rendement de levure. Deuxièmement, En dehors des nitrites, des fortes concentrations en alcool inhibent également la croissance de ces levures. Un procédé d'alimentation des débits d'air par paliers croissants a été conçu pour diminuer la toxicité de l'alcool produit pendant la fermentation. Des résultats obtenus montrent une réduction de la toxicité des nitrites de 95,52 % après traitement au charbon actif. Le meilleur débit d'air de 0,1 g/L/min correspondant à la dilution 10 % révélant une concentration en sucres de 35,71 g/L a été obtenu avec le plan composite centré à deux paramètres. Le procédé conçu a permis de diminuer la concentration en alcool de 15 g/L à 1,5 g/L et d'augmenter la concentration en biomasse de 47 g/L à 65 g/L dans un bioréacteur fonctionnant en fed-batch monté au laboratoire. Le rendement final a été optimisé de 50 % partant d'une mélasse non traitée à 55 % avec une mélasse prétraitée au charbon actif. De même, après traitement au charbon actif suivi d'une hydrolyse acide, les concentrations en sucres totaux analysées par la méthode au DNS ont permis d'obtenir une concentration en sucres de 249 g/L, initialement à (51,3 ± 0,58) g/L.

**Mots clés :** Mélasse, canne à sucre, toxicité, charbon actif, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*.

#### Abstract

Baker's yeast is a unicellular fungus used in biotechnology and Agro-food to produce enzymes, antibiotics, vitamins, steroid hormones, bread and beer. Its production depends on the choice of a good substrate. Choosing molasses as a culture substrate to produce it, it was a way to valorise SOSUCAM's molasses. To achieve this survey, firstly it was necessary to confront the molasses toxicity problem, which would contain growth inhibiting compounds such as nitrites. Hence, the option to treat molasses with active charcoal was in order to reduce molasses toxicity. Secondly, knowing that high alcohol a concentration also inhibiting the Baker's yeast growth, an increasingly-compensated air aeration process has been set up to reduce alcohol production during the Baker's yeast process. A central composite plan two parameters was used to determinate the best dilution sugars and the best air flow applied on molasses pretreatments. The aim of this work is to optimize baker's yeast production by reducing toxicity of the elements growth inhibiting. The results show the reduction of the nitrites toxicity at 95.52 % after treatment by the active charcoal. The best air flow is 0.1 g/L/min corresponding to the best dilution at 10 % revealing 35.71 g/L sugars concentration. The process conceived permitted to decrease the concentration in alcohol to 15 g/L at 1.5 g/L and to increase the concentration of biomass to 47 g/L at 65 g/L in a fed-batch bioreactor gone up in the laboratory. The final output has been optimized to 50 % with none pretreated molasses at 55 % with charcoal pretreated molasses. In the same way, after treatment to the active coal followed by acidic hydrolysis, the concentration of totals sugars analyzed by DNS method permitted to get a sugars concentration to 249 g/L, initially in 51.3 g/L ± 0.58 g/L.

**Keywords:** Sugarcane molasses, Toxicity, Active charcoal, Fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*.

## 1. INTRODUCTION

Des tonnes de déchets sont produites chaque année à l'échelle mondiale dans divers secteurs d'activités. Ces déchets constituent un danger permanent pour la biodiversité du fait qu'ils contribuent fortement à la pollution environnementale. En effet, certaines recherches ont montré que ces déchets sont souvent stockés dans des usines de production à l'attente d'un processus de prétraitement avant d'être déversés dans la nature ; ce qui est coûteux en termes économique et d'espace. Car les moyens mis en jeu pour leur prétraitement sont trop énormes comparé au recyclage (Lebeault et Bernon, 1992). D'où la nécessité de leur valorisation comme intrants industriels dans de nouvelles chaînes de production en tant que coproduit (Nawel, 2014). La valorisation des coproduits bien qu'elle soit encore restreinte dans certains pays, surtout en développement comme le Cameroun, connaît par contre un essor remarquable dans des pays dits industrialisés tels que la France qui est le premier producteur mondial de la levure boulangère avec les sociétés Lesaffre en France et au Maroc (Bourasse et al. 2006).

Le Cameroun est un pays très riche en biodiversité surtout dans le domaine agricole, avec des climats et des végétations favorables à la culture des produits telle la canne à sucre ; qui peut se cultiver dans presque toutes les dix régions du pays, et dont la période de maturité varie entre quinze à dix-huit mois suivant la variété et le type de sol (Kapseu et al. 2014). Le souci majeur au Cameroun, est celui de l'exploitation à grande échelle de ces ressources qui est encore limitée surtout sur le plan agricole. Car le plus souvent, l'option est d'importer des produits de même nature qui pourraient être fabriqués surplace avec peu de moyens passant par la transformation de la matière première locale. Notons par ailleurs que cette importation entraîne une fuite de devises. C'est le cas par exemple de l'importation de la farine et des produits de pâtisserie telle que la levure boulangère dont les coûts sont évalués à près 2,6 milliards/an (Cameroon-Agri-food Trade Statistical Factsheet, 2017). Pourtant, le Cameroun dispose une société sucrière importante qui génère des tonnes de coproduits tels que la bagasse, les boues, la mélasse. Cette dernière selon la littérature, a été utilisée ailleurs pour produire une levure boulangère de bonne qualité (Nawel, 2014 ; Shafaghat et al. 2012 ; Mostari, 1993). D'après Flynn et Adams (1981), la levure cultivée sur la mélasse serait riche en nutriments, de bonne qualité, et serait plus adaptée à la pâtisserie comparée à celle obtenue à partir des moûts de céréales qui serait adéquate à la formulation d'aliments pour bétail.

La mélasse de la SOSUCAM, produite à hauteur de 34 000 tonnes/an est sous valorisée, car utilisée uniquement dans la distillerie, l'alimentation pour bétail et d'autres produits dérivés d'alcool (Kapseu et al. 2014). Il serait donc nécessaire d'envisager d'autres moyens de transformation. Valoriser cette mélasse dans la production de la levure, contribuerait à utiliser des ressources agricoles et agro- industrielles en intégrant à la fois la biodiversité microbienne dans l'exploitation des ressources tropicales (Roger et al. 1999) et dans le même temps, générer les revenus (Ganou et Fahasmane, 2011). Notons que la mélasse est un coproduit obtenu après 3<sup>ème</sup> cristallisation de la masse cuite qui porte encore le nom d'égout C (Kapseu et al. 2014).

Cependant, la mélasse de canne à sucre contiendrait des composants toxiques à l'instar des nitrites qui inhiberaient la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* (Bourasse et al. 2006), et devraient être éliminés avant le procédé de fermentation dans un processus de clarification de la mélasse en utilisant le charbon actif comme adsorbant. Le choix du charbon actif granulaire s'explique par le fait qu'il permet d'améliorer certains paramètres tels que : la couleur, le goût, l'odeur, la demande en désinfectant ; et permet en outre d'obtenir des rendements d'élimination du carbone organique biodégradable pouvant aller jusqu'à 80 % à 18 °C (Tadjia, 2011). Il est important de préciser que les nitrites provoquent des troubles digestifs et ses produits dérivés tels que les nitrosamines et les nitrosamides se sont montrés cancérigènes (Bouguerra, 2010).

Par ailleurs, le métabolisme secondaire de la levure génère des produits toxiques tel l'alcool qui devient dans le milieu un inhibiteur de croissance des levures (Levenspiel, 1999).

D'où l'objectif général de ce travail qui est d'investiguer les possibilités de produire la levure boulangère en utilisant la mélasse de la SOSUCAM comme substrat après avoir réduit la toxicité des nitrites, dans un bioréacteur fonctionnant en fed-batch question de mieux gérer l'inhibition à l'alcool produit simultanément dans le milieu de culture. Spécifiquement, il sera question de caractériser notre mélasse, de déterminer la teneur initiale en nitrites, désintoxiquer la mélasse en utilisant le charbon actif granulaire, optimiser les paramètres influant la production de la levure à savoir, le débit d'air et la concentration en sucres enfin déterminer les cinétiques de production d'alcool et la vitesse de croissance de la levure obtenue.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1. Analyse physicochimique de la mélasse

La teneur en eau et de la matière sèche ont été déterminées selon les méthodes AOAC (1990) et la teneur en cendres, par la méthode (AFNOR, 1981). Le pH a été mesuré selon la méthode décrite par Larsson et al. (1993). A partir d'un capteur de pH muni de son instrumentation. La teneur en protéines, deux méthodes ont été utilisées, la minéralisation, selon AFNOR (1984) et le dosage selon Devani et al. (1989). Les teneurs en glucides solubles et totaux ont été déterminées par la méthode au DNS (Fischer et Stein, 1961).

- Mesure de la viscosité de la mélasse

La mesure de la viscosité de la mélasse est réalisée suivant la méthode modifiée décrite par Mbougoung (2009), avec le mobile 21. Dans un Rhéomètre à Couette de marque Brookfield DVIII-Ultra NBDV.

Mode opératoire

Après avoir mesuré une quantité d'échantillon de mélasse (7,1 mL). On impose une contrainte variant dans les essais d'écoulement de 73,66 à 319,3 Pa pour une température comprise entre 30 et 32 °C. On obtient une courbe d'écoulement dont le modèle permet de tracer la courbe d'écoulement laminaire reliant la contrainte de cisaillement ( $\tau$ ) et la vitesse de cisaillement ( $\gamma$ ), puis de déduire l'indice d'écoulement (**n**), le coefficient de régression (R) et l'indice de consistance (K) de la mélasse.

$$\tau = \tau_0 + k \gamma^n \quad (1)$$

Où:  $\tau$  : contrainte de cisaillement (Pa) ;  $\tau_0$  : seuil d'écoulement (Pa),

**K** : indice de consistance (Pa.s)  $\gamma$  : vitesse de cisaillement ( $s^{-1}$ ), **n** : indice d'écoulement.

### 2.2. Dosage des nitrites

La Méthode de Rodier et al. 2009 a été utilisées avec de légères modification : Les concentrations en nitrite ont été dosées avant et après le traitement au charbon actif. La Spectrométrie d'absorption moléculaire, SAM (absorption des radiations lumineuses de l'UV et du visible) : Quand un rayonnement d'une longueur d'onde donnée  $\lambda$  traverse un milieu, son intensité diminue en fonction de la densité des espèces absorbantes et de l'épaisseur du milieu. Cette propriété est utilisée pour déterminer la concentration des espèces chimiques absorbant à une longueur d'onde déterminée. Le dosage des nitrites s'est fait par spectrométrie à l'aide Spectrophotomètre de marque anglaise Jenway, A840.

- Préparation des solutions

La solution mère d'azote nitrite pour l'étalonnage est préparée en Prélevant 1g de chlorure d'ammonium, qui est dissout dans une fiole contenant une quantité d'eau distillée, et le volume est complété jusqu'au trait de jauge à 1000 mL. Les solutions de dilution de la mélasse se sont préparées en diluant la mélasse au 1/10. La solution de

soude – tartrate est préparée en dissolvant 100 g de soude + 1 g de tartrate double Na, K avec de l'eau distillée dans un bécher pour un volume total de 250 mL. La solution de salicylate de sodium a été préparée en pesant 5 g de salicylate de sodium et dissoudre dans une quantité d'eau distillée contenue dans une fiole jaugée de 1000 mL et compléter le volume d'eau total à 1000 mL ces solutions sont des solutions réactives qui vont réagir avec les nitrites contenus dans la mélasse.

Pour la préparation des échantillons, dans un bécher de 50 mL, 10 mL de la solution diluée de mélasse étaient prélevés sur lesquels ont été ajoutés 2 mL de solution de salicylate de sodium. Le tout a été évaporé totalement sur une plaque chauffante. Après refroidissement à température ambiante, 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, 15 mL d'eau distillée, et 3 mL de solution double tartrate de sodium de K et Na ont été ajoutés. La lecture s'est faite dans un spectrophotomètre à la longueur d'onde  $\lambda=420$  nm contre le tube Blanc contenant uniquement 10 mL d'eau distillée et les solutions réactives ajoutées dans la même proportion que l'échantillon afin de déterminer la teneur initiale en nitrites.

### 2.3. Désintoxication de la mélasse au charbon actif

La désintoxication de la mélasse s'est faite en utilisant la méthode gravimétrique décrite par Ouakouak et al. (2013). La méthode de détermination de la masse des impuretés adsorbées au charbon actif suivant la méthode gravimétrique basée sur la différence de poids du charbon actif après séchage à l'étuve avant et après adsorption des impuretés. Le charbon actif granulaire commercial, d'origine végétale utilisée dans cette étude, nous a été fourni par le laboratoire de chimie Riedel-de Haen. C'est un charbon actif mésoporeux de 20 nm de granulométrie et de 658 m<sup>2</sup>/g de surface spécifique Pour ce qui est de la masse des impuretés adsorbée, 4g du charbon actif ont été pesés pour un volume total de 1000 mL (eau distillée + mélasse), pour les différentes dilutions. Le but de cette analyse est de trouver la meilleure dilution qui permettra d'adsorber un maximum d'impuretés. Après 24h, 48h et 72 h de séjour du charbon actif dans la mélasse diluée à une température de 32 °C, pour un pH de 4,5. La filtration à la fin de l'adsorption se fait à chaud. Ensuite, vient à l'étape du séchage à l'étuve à 60 °C pendant 2h des granules humides de charbon actif. Le séchage est complet lorsque la masse devient stable (masse invariable), car toutes les 30 mn, la masse est mesurée. La différence de masse du charbon actif avant et après les étapes respectivement de l'adsorption et du séchage nous donne la quantité d'impuretés adsorbées après étuvage. Suivant ce schéma descriptif :

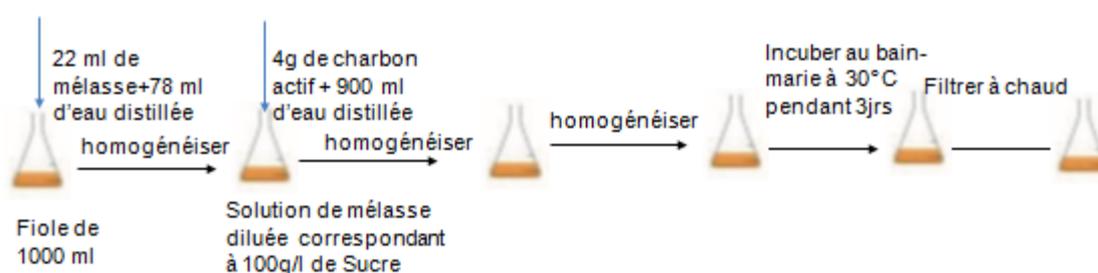


Figure 1 : Schéma du traitement de la mélasse au charbon actif

### 2.4. Optimisation de la production de la levure boulangère à partir de la mélasse

#### 2.4.1. Plan composite centré pour l'optimisation des paramètres

Le but de ce plan d'expérience est d'optimiser le rendement de production de la biomasse. Le plan mis en œuvre est un plan composite centré. Il a été choisi premièrement pour sa simplicité et sa mise en œuvre avec peu d'essais en plus d'être un plan d'optimisation. Deuxièmement, permet d'avoir un plan factoriel 02 facteurs à 05 niveaux d'effets, deux réponses qui sont la production d'alcool et de la biomasse afin d'obtenir un modèle de second degré

où l’optimum serait un minimal pour le cas d’alcool, et un maximum pour le cas de la biomasse. Le tableau 1 présente la matrice d’expérience avec d’une part des valeurs réelles et codées des variables et des réponses attendues d’autre part qui doivent être implémentés dans le logiciel Minitab 18.

**Tableau 1** : Les valeurs codées et réelles du plan composite centré

Niveau	Dilution de la mélasse (g/L) (valeurs codées)	Débit d’air (g/L/min) (codées)	Dilution de mélasse (réelle)	Débit d’air (valeurs réelles)	Réponse1 (Y1)= Concentration en biomasse (g/L)	Réponse2(Y2)= Concentration en alcool (g/L)
1	0	0	17,85	0,1		
2	+1	+1.41	26,78	0,15		
3	-1	-1.41	8,92	0,05		
4	-1,41421	-1,41421	3,5	0,01		
5	1,41421	1,41421	35,71	0,2		

#### 2.4.2. Production de la levure boulangère

La mélasse a au préalable été hydrolysée après traitement au charbon actif suivant la méthode décrite par (Shafaghat et al. 2012). La Méthode utilisée pour fermenter la mélasse est celle décrite par (Acourene, 2013).

Dès sa réception au labo, la mélasse est stockée dans un réfrigérateur à 4 °C. Ensuite ont suivi les étapes de dilution, d’adsorption au charbon actif, de filtration, d’hydrolyse acide, de stérilisation dans des conditions aseptiques avant de subir une fermentation dans un bioréacteur fonctionnant en fed batch (figure 2).

#### 2.4.3. Préparation de la mélasse

220 mL de mélasse ont été pesées à partir d’une fiole jaugée de 1000 mL ensuite dissoutes avec un volume d’eau distillée de 780 mL préalablement chauffée à 65 °C pendant 10 mn. Après dilution de la mélasse dans de l’eau chaude, la solution obtenue est refroidie à 30 °C. Peser ensuite 4g de charbon actif granulaire commercial et introduire à l’intérieur de la fiole contenant la dilution de mélasse, ensuite ajouter de l’eau distillée jusqu’au trait de jauge. Ajuster la température du bain-marie à 32 °C et laisser l’adsorption se dérouler pendant 72h. Toutes les 24h, renouveler le charbon actif. Filtrer à chaud. Déterminer la masse d’impuretés adsorbée par le principe de différence de masse des grains de charbon actif avant et après adsorption et séchage à 60 °C pendant 2h à l’étuve. Ensuite doser la quantité de sucres libres obtenue. Certaines de ces impuretés telles que les colloïdes complexent le sucre de la mélasse, une fois ces impuretés éliminées, le taux de sucres libres de la mélasse doit nécessairement augmenter. Après libération des sucres complexés dans des impuretés par adsorption au charbon actif. Enfin on passe à l’hydrolyse à l’acide sulfurique concentré à 98 % dans les proportions 1/400 volume acide/volume dilution. Après 24 h d’hydrolyse acide, stériliser le mélange à l’autoclave pendant 15 mn à 121 °C.



Figure 2.1. Bioreacteur

#### 2.4.4. Activation de la souche de levure

La souche pure de levure a été acquise auprès des sociétés Lesaffre -France : la L13, sous forme de granules qui devaient être réactivées. Pour l'activation, les solutions d'ajustement de pH avec du  $H_2SO_4$  et du NaOH 10 % sont préparées. Le milieu de culture est préparé dans des conditions aseptiques afin d'éviter toute contamination. Le milieu de culture est renouvelé toutes les 24 h pendant 72 h. La souche de levure entretenue sur milieu liquide est réactivée à 30 °C, à un pH de 4,5 dans un ballon de 1 L avec le milieu nutritionnel de composition suivante :

Extrait de levure : 20,0 g ; NaCl : 2 % ; CaCl : 3 % ; Sulfate de magnésium à 20 % : 5,0 mL ; Phosphate d'ammonium à 20 % : 5,0 mL ; Eau distillée : 500,0 mL ; pH ajusté avec l'acide sulfurique 1 N, à 4,5 ; Biotine (trace) ; Urée à 10 % ; 100 g de saccharose ; levure crème activée. Après culture, l'ensemble est centrifugé et le culot est récupéré.

#### 2.4.5. Mesure des débits d'air

Les débits d'air ont été calibrés à partir des conduits d'un perfuseur médical acquis auprès des pharmaciens dont l'entête est connecté à un compresseur Rena 101. Le réglage des différents débits se fait de la même manière pour une perfusion intraveineuse. A partir de ces conduits connectés à une pissette vide, une masse d'air avec un débit constant est envoyée jusqu'au remplissage d'un litre d'air la pissette bouchée ensuite pesée à l'aide d'une balance analytique après l'avoir tarée. Le temps mis et la masse d'air envoyée pour 05 niveaux de débits obtenus sont notés. Chaque débit d'air mesuré est marqué sur le débitmètre du perfuseur. Au bout des conduits, sont reliés des diffuseurs d'air pour permettre une aération homogène dans le bioréacteur. Ces différents débits ces débits d'air sont implémentés dans un plan d'expérience. Le temps et la masse d'air ont été utilisés pour calculer les débits correspondants, suivant la formule :

$$D = m/t \text{ (D est le débit en g/L/min)}. \quad (2)$$

#### 2.4.6. Culture de la première génération de levure

Le processus de la production des levures s'est déroulé dans un fermenteur de labo à 4 cols ayant une capacité de 2L, sur une durée de fermentation de 24h. 03 cols sont bouchés, et reste un col ouvert pour la sortie du  $CO_2$  à la température de 30 °C et à un pH de 4,5. Les différentes fermentations effectuées se sont réalisées avec cinq différents débits : 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,15 et 0,2 g/L/min. Ces valeurs ont été choisies suivant certaines données de la bibliographie. Le diffuseur d'oxygène relié au conduit est placé au fond du bioréacteur et le débit reste constant jusqu'à la fin de la fermentation, le milieu nutritionnel est constitué de 350 mL de mélasse diluée aux différentes

concentrations 3,5 g/L ; 8,81 g/L ; 17,81 g/L ; 26,78 g/L ; 35,71 g/L ; et 100 g/L. De la biotine en forme de trace, la source azotée constituée de 7,5 mL l'urée à 10 %, 10 mL du phosphate d'ammonium à 20 %, 20 mL du sulfate d'ammonium 20 %, 20 mL du phosphate de magnésium 10 %, de 2 mL du NaCl 3 %, 3 mL du CaCl à 3 %, de 500 mL d'eau distillée, 250 mL de crème de levure à 25 g/L provenant du milieu d'activation. Le débit d'alimentation de la mélasse est de 50 mL/heure.

#### 2.4.7. Culture de la seconde génération de levure

La culture en continue s'est déroulée sur une période de 24 heures et les cinétiques quant à elles ont été suivies pendant 12 h. Le fermenteur utilisé était cette fois d'une capacité de 3 litres dans lequel on introduit : 1000 mL d'eau ; 320 mL de crème de levure à 25 g/L provenant du milieu de culture de la première génération ; 675 mL de mélasse stérilisés à 120 °C durant 15 à 20 mn. Le débit d'alimentation du fermenteur en mélasse est de 50 mL par heure, le milieu de culture est composé de : 5,6 g d'urée ou 2,8 d'urée + 2,8 g de sulfate d'ammonium [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] + 7,5 g de phosphate diammonique [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>] + 0,3 g de sulfate de magnésium [(MgSO<sub>4</sub>)]. Les quantités des différents éléments nutritifs sont fractionnées en quatre lots, une partie est apportée au début de fermentation, une autre vers la troisième heure, une autre vers la sixième heure et la dernière vers la neuvième heure. La température de fermentation est maintenue constante à 30 °C. Le pH est fixé à 4,5 par ajout d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 % ou de carbonate d'ammonium au cours de la fermentation. L'aération est continue dans le milieu. La durée de fermentation est de 24 heures et le suivi des cinétiques se fait pendant 12 heures. Et les prélèvements se font après chaque une heure de fermentation pour des analyses des produits (biomasse, alcool et sucre résiduel).

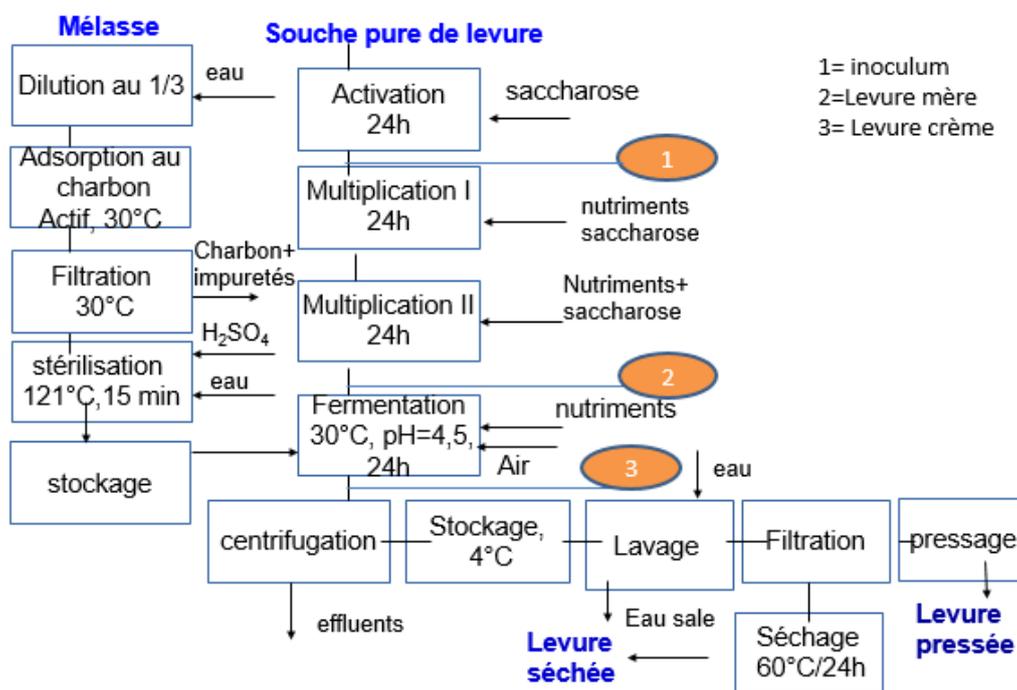


Figure 3 : Schéma général du procédé de production de la levure boulangère

#### 2.4.8. Détermination des quantités des produits

##### Dosage de l'alcool

La quantité d'alcool produit a été dosée en utilisant la méthode modifiée décrite par Bouquadida (2012).

En milieu acide et en présence d'oxygène, l'alcool s'oxyde en acide éthanoïque La réaction d'oxydo-réduction de l'alcool est basée sur l'équation bilan du dosage de l'excès d'alcool dissout dans l'effluent par une solution de

bichromate de concentration connue en présence d'une solution de sulfate ferreux suivant les équations (3) de réduction l'ion dichromate et (4) d'oxydation l'éthanol en acide éthanoïque :



L'équation bilan de ces deux réactions (2+3) donne l'équation (5)



#### Mode opératoire

2 mL d'effluent sont prélevés du milieu de culture, puis filtrés à l'aide d'un papier filtre wattman N° 1, ensuite récupérés dans un tube à essai. La solution oxydante de bichromate ( $2\text{K}^{2+} + \text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) préparée à 5 %, se trouvant dans une burette, est utilisée pour oxyder l'alcool dissoute en acide acétique. Le dosage de l'excès d'alcool oxydé en acide acétique se fait à l'équilibre par titrimétrie en ajoutant 3 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur coloré. La fin de la réaction à l'équilibre est marquée par une zone de virage due au changement de coloration orangée du dichromate à un précipité rouge sombre déposé au fond du tube qui se fonce au fur et à mesure que la réaction se déroule en présence d'air. En l'absence d'alcool dans l'effluent, il n'y aura pas de changement de coloration orangée de la solution de dichromate versée dans le bécher. La solution de dichromate 5 %, est acidifiée avec de l'acide chlorhydrique 67 %.

Expression des résultats :

$$N_1 = \frac{N_2 \cdot V_2}{V_1} \quad (6)$$

Avec  $N_1$  = la normalité de la solution d'alcool de volume  $V_1$  prélevé dans l'effluent ;  $N_2$  = la normalité de la solution de dichromate connue, et  $V_2$  le volume de dichromate à l'équilibre nécessaire pour doser l'excès d'alcool.

Comptage des levures dans la cellule de Thoma (Riess, 2012).

Selon cette méthode La numération cellulaire se fait sur une cellule de Thoma qui permet d'estimer la biomasse totale. Les comptages sont réalisés sur 5 grands carreaux non adjacents, avec un grossissement de 400 fois sous lumière blanche. Pour le dénombrement, une dilution de l'échantillon a été faite pour obtenir entre 30 et 60 cellules par grand carreau.

Préparation de la dilution de la levure : la dilution s'est faite au 1/100 v/v. Le comptage se fait avant et après fermentation en notant  $N_0$  le nombre de cellules de levure compté avant et  $N$  le nombre de cellule à la fin de la phase exponentielle et  $N_f$  le nombre de cellule à la fin de la fermentation. La concentration cellulaire  $C$  exprimée en cellules par millilitre est donnée par la relation suivante  $C = (\text{nombre de cellules comptées} / \text{nombre de grands carreaux}) \cdot \text{dilution} \times 0,25 \times 10^6$

Cette formule peut encore s'écrire :

$$N_f = N \cdot 4 \cdot F \cdot 10^6 \text{ cellules/mL} \quad (7)$$

**F = le facteur de dilution**

### 2.5. Cinétiques de croissance de la levure et de production d'alcool

La quantification de la biomasse et le taux de croissance ont été déterminés selon (Acourene, 2013 et Shafaghat et al. 2012). La méthode est basée sur la spectrophotométrie et la DO lue est proportionnelle à la concentration en biomasse et cette concentration sera utilisée pour estimer le taux de croissance maximum.

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} \frac{S}{K_S+S} X \tag{8}$$

Où X= nombre de cellule ; t= temps(s) ; μ=vitesse spécifique de croissance des cellules(s<sup>-1</sup>) et S, la concentration en substrat.

Les cinétiques de croissance de la biomasse et de production d’alcool ont été déterminées en prélevant chaque 01 heure jusqu’à 12 h, 10 mL d’effluent qui seront filtrés pour récupérer sur du papier filtre la biomasse, qui sera ensuite diluée au 1/20 avant d’être lue au spectrophotomètre à la longueur d’onde λ=620 nm pour déterminer la DO après avoir étalonné l’appareil avec une suspension de levure de concentration connue de 1 g/L. La solution d’étalon permet de tracer la courbe d’étalonnage pour des DO n’excédant pas 0,8. Le filtrat recueilli permettra de doser l’alcool dissout dans le milieu de culture.

### Détermination du rendement de la levure

Le rendement de la mélasse a déterminé selon la formule décrite par (Acourene, 2013).

A la fin de la fermentation, on récupère un échantillon dans un tube à essai qu’on va centrifuger à 3500 trs/mn. Le surnageant est récupéré pour pouvoir doser les sucres résiduaire qui n’ont pas été fermentés. On récupère aussi le culot qui est ensuite lavé et centrifugé et calculer aussi le poids de la biomasse fraîche et la teneur en matière sèche. On calcule par la suite le rendement de production suivant la formule :

$$\text{Rendement(R)} = \frac{P}{S_0-S_R} \tag{9}$$

P= quantité de la biomasse sèche ; S<sub>0</sub>= teneur en sucre initiale dans fermenteur ; S<sub>R</sub>= teneur en sucre résiduaire.

## 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. Analyse physico-chimique de la mélasse

Les tableaux 2, 3, 4 présentent les résultats de la caractérisation de la mélasse avant et après le prétraitement de mélasse au charbon actif ainsi que les teneurs initiales et résiduelles des nitrites. Après prétraitement certaines analyses ont été reprises afin d’observer l’impact du prétraitement au charbon actif sur certains composés de la mélasse notamment la teneur en sucres et en nitrites. Ces résultats de la seconde analyse sont confinés dans le tableau 3. D’autre part les résultats de l’élimination des nitrites en fonction de la dilution de la mélasse sont confinés dans le tableau 4.

**Tableau 2 :** Caractérisation de la mélasse pour 100 g de matière avant prétraitement au charbon.

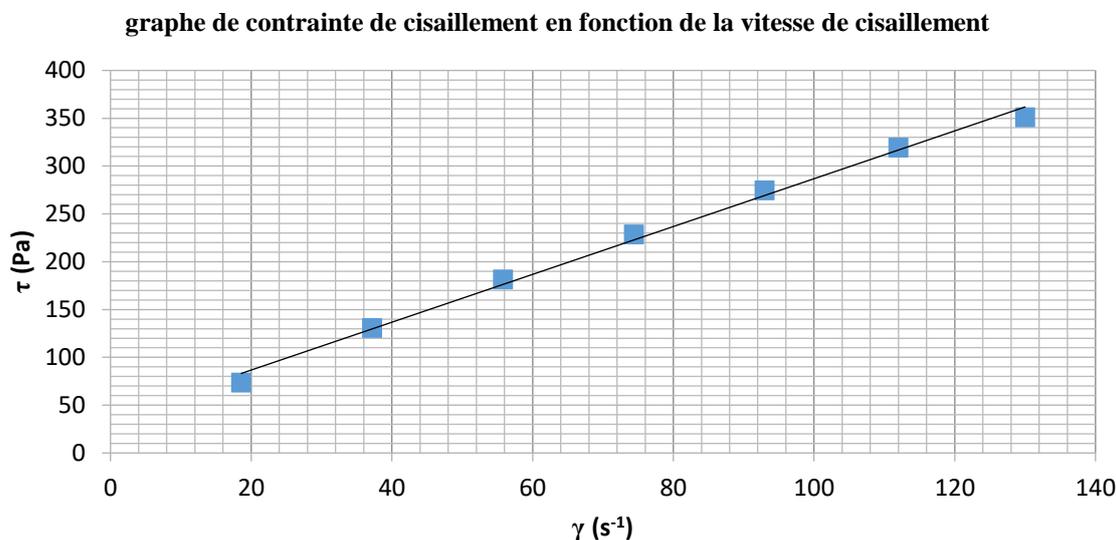
	pH	Matière sèche (% mh)	Teneur en eau (% mh)	Teneur en cendres (g/100 g MS)	Sucres totaux (g/100 g MS)	Sucres solubles (g/100 g MS)	Protéines totales (g/100 g MS)	Nitrite (g/L)
<b>Moyenne</b>	4,71±0,02	75,32 ±1,12	24,68±1,12	5,8 ±0,02	51,3 ±0,58	4,15 ±0,34	11,41 ±0,01	41,11±0,01

**Tableau 3 :** Caractérisation de la mélasse après élimination des impuretés au charbon actif.

Paramètres	Sucres totaux	Sucres solubles	Teneur en nitrites
Moyenne	62,58 g/100 g MS±0.01	15,25 ±0,71g/100 g MS	3,84±0,01 g/L

### 3.2. Comportement rhéologique de la mélasse

La mise en œuvre du mobile de déformation N° 21 dans un rhéomètre à Couette a permis de déterminer la courbe d'écoulement de la mélasse, pour un balayage de vitesse de cisaillement entre 18,6 à 112 (tours/min) et à la température comprise entre 30 et 32 °C. La figure 6 présente le résultat obtenu.



**Figure 6 :** Courbe d'écoulement de la mélasse

La figure 6 fait état d'une loi linéaire dont l'expression est donnée par l'équation 10 :

$$\tau = 46,522 \cdot \dot{\gamma} + 36,74 \quad R^2 = 0,9947 \quad (10)$$

Nous sommes en présence d'un fluide de Bingham. C'est-à-dire un fluide à contrainte critique et à indice d'écoulement égal à un, sur la plage de vitesse de cisaillement testée. La pente de la droite est égale à l'indice de consistance, encore égale à la viscosité, et l'ordonnée à l'origine représente la contrainte seuil. Ce résultat pourrait s'expliquer par la présence des sucres à longues chaînes, des protéines, des fibres, des colloïdes, des gels qui confèrent à la mélasse une structure solide semi-rigide qui commencera à s'écouler à partir d'un certain seuil de contrainte.

### 3.2. Dosage des nitrites

Le tableau 4 présente les résultats du rendement d'adsorption des nitrites contenus dans la mélasse au charbon actif à différentes dilutions de la mélasse.

**Tableau 4 :** Rendement d'adsorption des nitrites.

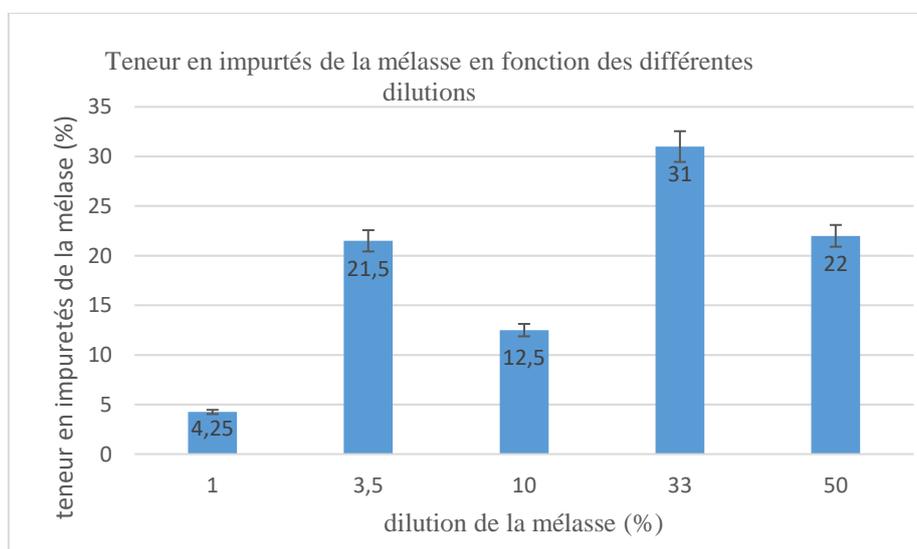
Différentes dilutions de la mélasse (%)	1	5	10	50	33
Concentration initiale du charbon (g/L)	4	4	4	4	4
Rendement d'adsorption des nitrites (%)	61,29	89,71	85,54	95,52	90,65

Il ressort des résultats du tableau 2 que, les différences observées notamment au niveau de la teneur en protéines avec les travaux de certains auteurs, soit  $11,41 \pm 0,01$  g/100 g MS contre 5 - 6 % (Bernard et al. (1991), peuvent s'expliquer par un sol fortement enrichi en composés azotés où ont poussé les cannes à sucre. Les teneurs en sucres et en nitrites sont les réponses choisies pour pouvoir observer l'impact du traitement de la mélasse au charbon actif. C'est pourquoi dans le tableau 3, leurs tests ont été repris. Il ressort des analyses physicochimiques effectuées que : Les teneurs en sucres totaux avant et après traitement au charbon actif ont évolué de  $51,3 \pm 0,58$  à  $62,58$  g/100 g MS  $\pm 0.01$  de même que celles des sucres solubles de  $4,15 \pm 0,34$  à  $15,25 \pm 0,71$  g/100 g MS. Ces résultats sont en accord avec ceux de Bernard et al. (1991) et Nawel, (2014), soit 65 - 75 %. Au départ il se pourrait que les impuretés de la mélasse aient encastré les sucres dans leurs mailles. Après élimination des impuretés, les teneurs en sucres libres et totaux ont bien évolué. De même que pour les concentrations en nitrites qui passent de  $41,11 \pm 0,01$  g/L à  $3,84 \pm 0,01$  g/L après traitement au charbon actif. Il est à noter que, malgré le traitement au charbon actif (**tableau 4**), ces valeurs restent néanmoins supérieures à celles recommandées par l'OMS soient des concentrations de 50 mg/L pour un aliment destiné à la consommation humaine (Bouguerra, 2010). Néanmoins le charbon actif a permis une diminution de nitrites de 95,52 %. Ces valeurs sont supérieures à celles de Gueye (2009) qui ont trouvé des teneurs variant entre 80 et 88 %. L'hypothèse selon laquelle l'élimination des impuretés au charbon actif serait aussi proportionnelle à la taille des molécules à éliminer a été vérifiée. Plus la mélasse était concentrée, plus la teneur en nitrites était élevée et plus une grande quantité d'impuretés était retenue dans les pores du charbon actif (Ouakouak et al. 2013).

### 3.3. Traitement de la mélasse au charbon actif

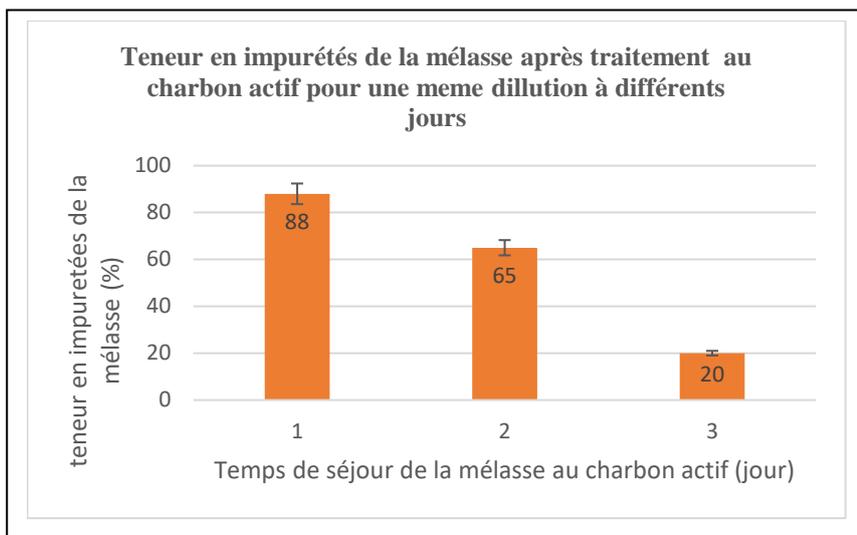
#### - Elimination des autres impuretés de la mélasse au charbon actif

Les expériences préliminaires ont conduit à choisir les dilutions au 1 % ; 5 % ; 10 %, 50 % ; et à 33 % de la mélasse. Les conditions opératoires ont été les mêmes pour l'élimination des nitrites. Les résultats sont présentés dans les figures 4 et 5.



**Figure 4 :** Teneur en impuretés en fonction de la dilution de la mélasse

Après le traitement à l'acide sulfurique concentrée en vue d'hydrolyser les polysaccharides de l'échantillon de mélasse, puis au charbon actif, les sucres totaux ont encore été dosés, et les valeurs des sucres totaux ont triplés soit 249 g/L partant de 62,58 g/L initialement calculé. Ces résultats sont proches de ceux de (Shafaghat et al. 2012) soit 250 g/L.

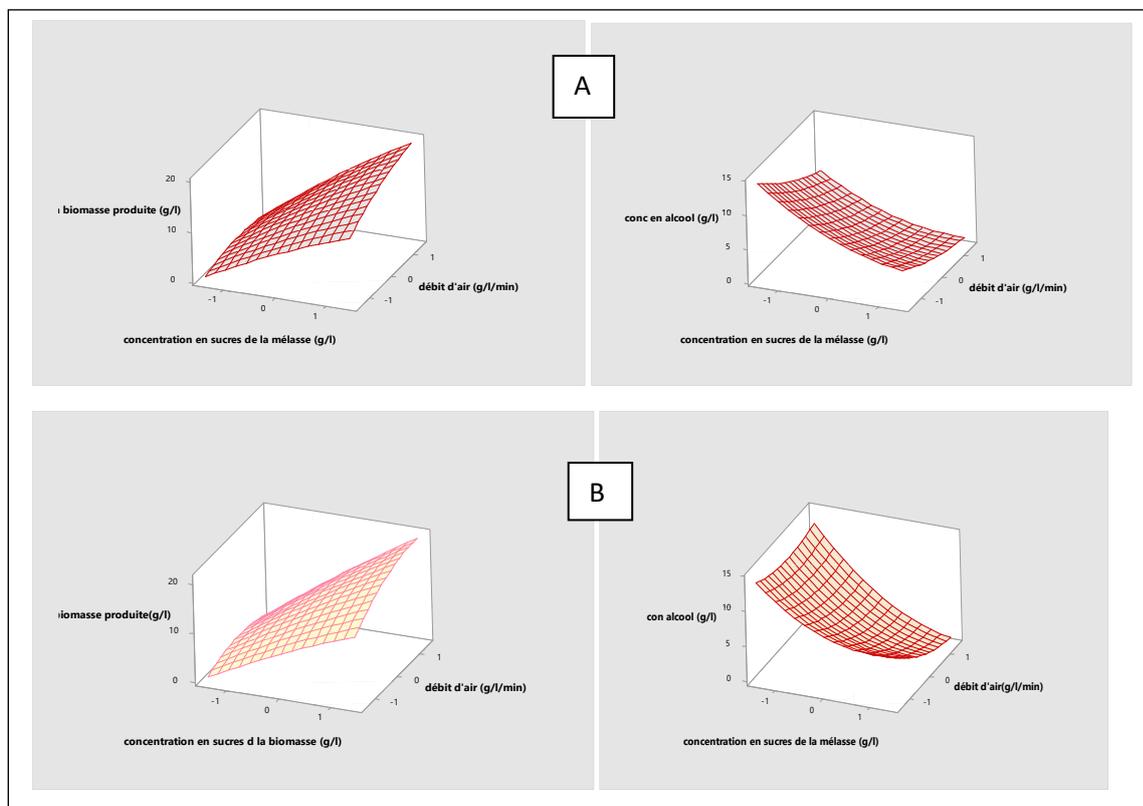


**Figure 5 :** Teneur en Impuretés de la mélasse en fonction du temps de séjour.

Dans la figure 4, La meilleure dilution obtenue permettant d’éliminer un maximum d’impuretés est de 33 %. Pour des raisons d’optimisation du procédé, le temps de séjour du charbon actif dans la mélasse a été prolongé avec le même échantillon, de 24 à 72 h. La teneur en impuretés a largement diminué de 88 à 20 %.

### 3.4. Optimisation de la production de la levure

La figure 7 présente les courbes de surface de réponse obtenues dans cadre de la modélisation en utilisant le plan composite centré à deux paramètres.



**Figure 7 :** Courbes de surface de réponse pour l’optimisation de la production de la biomasse et l’alcool avec une mélasse non traitée (A) et traitée au charbon actif (B) obtenu à partir du logiciel Minitab 18.

**La figure 7** présente les courbes de surface de réponse modélisant la production de la biomasse et celle de l'alcool à partir d'une mélasse non traitée (**A**) et une mélasse traitée au charbon actif (**B**). Il ressort que la multiplication de la levure est proportionnelle à la concentration en sucres et à l'apport des débits d'air dans le milieu jusqu'à une certaine concentration. Cette relation de proportionnalité reste constante jusqu'à une certaine concentration en sucre correspondant à l'optimum. Au-delà de cet optimum, les concentrations de la biomasse commencent à baisser. Avec une interaction des deux paramètres non significatifs.

Par contre concernant la production de l'alcool dans le milieu, c'est tout le contraire de ce qui est observé au niveau de la production de la biomasse. Les fortes concentrations en sucres favorisent la production de l'alcool dans le milieu, tant dis que les forts débits d'air favorisent la baisse de cette production. Et l'effet de l'interaction des deux paramètres est très significatif. La mélasse prétraitée au charbon actif favorise la production des concentrations élevées en alcool contrairement à celle qui n'a pas été prétraitée. Ceci peut s'expliquer par le fait que les concentrations en sucres libres après prétraitement au charbon actif ont triplé. Ces résultats corroborent ceux de Nawel (2014) et Bourasse et al. (2006), qui ont trouvé l'optimum à des concentrations en sucres égales à 35 g/L, correspondant à la dilution au 10 % de la mélasse. Les modèles obtenus sont proposés par les équations 10, 11, 12, 13 pour la mélasse non traitée (MNT) et traitée (MT).

**Modèles de production de la biomasse :**

$$(MNT) : Y_a = 10,600 + 5,404 A + 1,286 B - 0,356 A*A - 0,606 B*B + 0,775 A*B \tag{11}$$

$$(MT) : Y_b = 11,650 + 5,837 A + 1,286 B - 0,319 A*A - 1,019 B*B + 0,875 A*B \tag{12}$$

**Modèles de production d'alcool:**

$$(MNT) : Y_c = 4,52 - 2,778 A - 1,968 B + 0,834 A*A + 0,334 B*B + 0,375 A*B \tag{13}$$

$$(MT) : Y_d = 4,80 - 3,526 A - 1,226 B + 1,220 A*A + 0,587 B*B - 0,717 A*B \tag{14}$$

Les tableaux 5, 6, 7 et 8 présentent les analyses de validation de ces modèles par ANOVA

**Validation des modèles**

**Tableau 5 :** ANOVA pour la formation de la biomasse non prétraitée

source	coeff	valeur	DL	SC ajust	CM ajust	F	P-value
modèle		10,600	5	251,008	50,202	103,88	0,000
Coef linéaires	A	5,404	1	233,653	233,653	483,50	0,000
	B	1,286	1	13,220	13,220	27,36	0,006
Coef quadratique	A*A	- 0,356	1	0,580	0,580	1,20	0,335
	B*B	- 0,606	1	1,680	1,680	3,48	0,136
Coef interaction	A*B	0,775	1	2,403	2,403	4,97	0,090
Erreur			4	1,933	0,483		
Erreur d'ajustement			3	1,913	0,638	31,88	0,129
Erreur pure			1	0,020	0,020		
Total			9	252,941			
<b>R<sup>2</sup> : 99,24 %,</b>							

**Tableau 6 :** ANOVA pour la formation d'alcool avec mélasse non-prétraitée

source	coeff	valeur	DL	SC ajust	CM ajust	F	P-value
modèle		10,600	5	96,482	19,2965	6,62	0,046
Coef linéaires	A	5,404	1	61,760	61,7601	21,17	0,010
	B	1,286	1	30,979	30,9788	10,62	0,031
Coef quadratique	A*A	- 0,356	1	3,178	3,1778	1,09	0,356
	B*B	- 0,606	1	0,509	0,5092	0,17	0,698
Coef interaction	A*B	0,775	1	0,562	0,5625	0,19	0,683
Erreur			4	11,668	2,9169		
Erreur d'ajustement			3	11,667	3,8891	19445,57	0,005
Erreur pure			1	0,000	0,0002		
Total			9	108,150			
<b>R<sup>2</sup> : 89,21%</b>							

**Tableau 7 :** ANOVA pour la production de la biomasse sur mélasse prétraitée

source	coeff	valeur	DL	SC ajust	CM ajust	F	P-value
modèle		10,600	5	293,684	58,737	81,25	0,000
Coef linéaires	A	5,404	1	272,579	272,579	377,05	0,000
	B	1,286	1	13,220	13,220	18,29	0,013
Coef quadratique	A*A	- 0,356	1	0,464	0,464	0,64	0,468
	B*B	- 0,606	1	4,744	4,744	6,56	0,063
Coef interaction	A*B	0,775	1	3,063	3,063	4,24	0,109
Erreur			4	2,892	0,723		
Erreur d'ajustement			3	2,847	0,949	21,09	0,158
Erreur pure			1	0,045	0,045		
Total			9	296,576			
<b>R<sup>2</sup> : 99,02 %</b>							

**Tableau 8 :** ANOVA pour la production d'alcool sur mélasse prétraitée au charbon actif

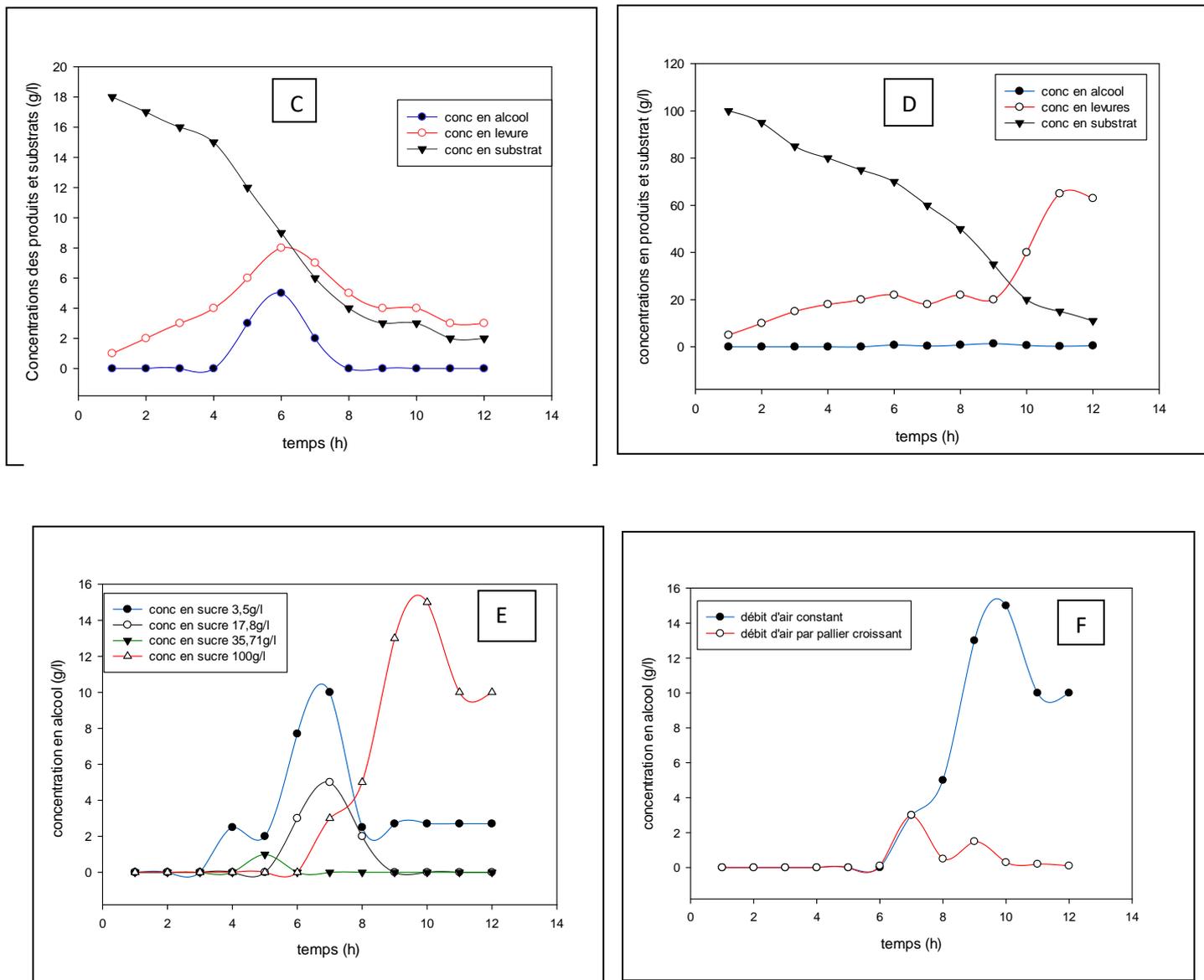
source	coeff	DL	SC ajust	CM ajust	F	P-value
modèle		5	120,352	24,0704	9,47	0,025
Coef linéaires	A	1	99,443	99,4434	39,12	0,003
	B	1	12,022	12,0220	4,73	0,095
Coef quadratique	A*A	1	6,804	6,8041	2,68	0,177
	B*B	1	1,578	1,5779	0,62	0,475
Coef interaction	A*B	1	2,059	2,0592	0,81	0,419
Erreur		1	2,059	2,0592	0,81	0,419
Erreur d'ajustement		4	10,168	2,5421		
Erreur pure		3	10,088	3,3628	42,04	0,113
Total		1	0,080	0,0800		
<b>R<sup>2</sup> : 92,21 %.</b>						

Les tests d'ANOVA ont été réalisés à partir du logiciel Minitab18.0.

Pour le cas de la biomasse avec mélasse non prétraitée, pour les valeurs P considérées, les effets quadratiques sont négligeables car leurs probabilités ne se rapprochent pas de 0. Pour le cas de la formation d'alcool pour les valeurs de P considérées, les effets quadratiques et interaction sont négligeables car leurs probabilités ne se rapprochent pas de 0. Pour le cas de la mélasse prétraitée, pour la production de la biomasse, pour les valeurs de P considérées, les effets quadratiques et interaction sont négligeables car leurs probabilités ne se rapprochent pas de 0. Au niveau de l'alcool, pour les valeurs de P considérées, les effets quadratiques et interactions sont négligeables car leurs probabilités ne se rapprochent pas de 0.

### 3.5. Cinétiques de croissance de la levure et de la production d'alcool

Les figures C, D, E, F présentent les cinétiques de croissance de levure et de production d'alcool



**Figure 8 :** C (cinétiques de croissance de la levure et production d’alcool en milieu moyennement enrichi en substrat sous un débit d’air constant. D (cinétiques de croissance de la levure et production d’alcool en milieu hyper enrichi en substrat sous un débit d’air non stationnaire. E (cinétiques de production d’alcool avec différentes concentrations en substrat). F (cinétiques de production d’alcool en milieux hyper enrichis en substrat sous un débit d’air constant et non stationnaire par paliers croissants) obtenues avec le logiciel SigmaPlot 12.0

La figure C présente les cinétiques de croissance de la levure sous un débit d’air constant dans un milieu moyennement concentré en sucre : La production de la biomasse est croissante de 0 à 4 heures de fermentation et pas encore d’alcool dans le milieu. A partir de la cinquième heure les premières concentrations en alcool apparaissent. Cette formation d’alcool entraîne directement une chute de la concentration du sucre correspondant à un pic optimal de concentration en alcool de 5g/L. Après ce pic, l’alcool dans le milieu recommence à diminuer tendant vers zéro ces résultats corroborent ceux de Acourene (2013), Cot (2006) et Mostari (1993).

La figure D présente les cinétiques de croissance de la levure sous un débit d’air non stationnaire dans un milieu très concentré en sucres : l’objectif étant d’optimiser la production de la levure et diminuer celle d’alcool à partir d’une aération du milieu par palier croissant des débits d’air suivant les concentrations 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,15 et 0,2 g/L/min. L’alcool apparaît dans le milieu entre la 6<sup>ème</sup> et la 9<sup>ème</sup> heure avec des concentrations respectives de

1 g/L et 1,5 g/L. Les courbes de biomasse et d'alcool ont une allure sigmoïdale. Le taux de croissance fait des bonds en fonction des périodes de variation des débits d'air dans le milieu. Il apparaît une concentration optimale de la levure, de 65 g/L pour les débits non stationnaires, très élevée par rapport à un débit d'air constant de 0,1 g/L/min, soit 47 g/L. L'augmentation du débit d'air augmente aussi la ventilation qui refoule les bulles de CO<sub>2</sub> formées en empêchant leur toxicité face à la levure. La forme sigmoïdale de la courbe de croissance montre que la multiplication des cellules se fait de façon rapide dans le milieu (Tadjia, 2011). Le taux de croissance trouvé :  $\mu = 0,45/h$  pour un temps de génération de 1h54min, avec une vitesse spécifique de dégradation des sucres de 8,5 g/L/h corroborent ceux de Van-Hoek (1992), soit  $\mu = 0,42/h$ .

La figure E présente les cinétiques de production d'alcool sous un débit d'air constant à différentes concentrations en substrat : Cette expérience a été menée pour étudier l'effet de la concentration en sucres pour un même débit d'air constant sur la formation d'alcool, suivant les concentrations en sucres de 3,5 g/L ; 17,8 g/L ; 35,71 g/L et 100 g/L. Les fortes concentrations en alcool sont observées avec des concentrations en sucre de 3,5 g/L et 100 g/L ceci peut s'expliquer par l'état de stress de la levure qui produit aussi une quantité d'alcool interne en dehors du métabolisme de glycolyse hormis l'alcool produit pendant le procédé (Cot, 2006 ; Acourene, 2013).

La figure F présente les cinétiques de production d'alcool sous un débit d'air constant et sous un débit non stationnaire (débits d'air croissants par palier) : Les deux expériences ont été menées pour observer la production d'alcool sous un débit d'air constant et sous un débit d'air non stationnaire pour une même concentration en sucre de 100 g/L. Avec cette expérience la production de fortes concentrations en alcool soit 15 g/L se fait avec des débits stationnaires, contrairement aux débits non stationnaires, soit 1,5 g/L. Ceci peut s'expliquer par une activité cellulaire où la majeure partie du sucre est orientée vers la glycolyse au détriment de la fermentation (Mostari, 1993).

La figure 9 présente la levure qui a été obtenue à l'issue de ces expériences.



**Figure 9 :** La levure boulangère obtenue

#### 4. CONCLUSION

Au terme de cette étude, il a été question de valoriser la mélasse de la SOSUCAM dans la production de la levure boulangère. Nous pouvons ainsi dire que notre objectif a été atteint, car la figure 9 présente en image cette levure. Pour cela, il fallait premièrement faire une analyse physicochimique de la mélasse, déterminer la teneur initiale en nitrites de cette mélasse, de diminuer sa toxicité en éliminant les nitrites et autres impuretés par traitement au charbon actif, et enfin modéliser la production de la levure en utilisant un plan composite centré avec comme paramètres le débit d'air et la concentration en sucres. En effet, c'est près de 96 % de nitrites qui ont été éliminés au charbon actif. Les analyses physicochimiques révèlent que cette mélasse contient assez de protéines soit 11,86 g/L, et moyennement de sucres totaux comparée aux autres mélasses, soit  $51,3 \pm 0,58$  g/100 g MS. Son comportement rhéologique est de type Bingham, avec un indice de consistance de 46,52 Pa.s et une contrainte seuil de 36,74 Pa. En utilisant le charbon actif comme adsorbant des impuretés, les rendements en biomasse ont évolué de 50 % à 55 % . L'optimisation du procédé et des paramètres influents ont permis d'obtenir de faibles concentrations en alcool

ont été atteintes jusqu'à une production minimale finale de 1,5 g/L dans un milieu en excès de sucres de 100 g/L. Ces modèles ont été validés en utilisant le test d'ANOVA avec des  $R^2$  variant de 89,21 % à 99,24 %. Les limites de notre étude restent néanmoins sur la qualité de la levure obtenue, car les concentrations minimales de nitrites pour un aliment destiné à la consommation humaine restent élevées par rapport à celles recommandées par l'OMS soit 50 mg/L, par conséquent la levure produite n'est pas pure et encore moins comestible.

## 5. CONFLITS DES INTÉRÊTS

Les auteurs n'ont aucun conflit d'intérêts à déclarer.

## 6. REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la **SOSUCAM** (Société Sucrière du Cameroun) pour la disponibilité de la mélasse.

## 7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acourene Said, 2013. Valorisation biotechnologique des dattes de faibles valeur marchande par la production de la levure boulangère, éthanol, acide acétique,  $\alpha$ -amylase ; Thèse de doctorat, spécialité : sciences agronomiques de l'école nationale supérieure d'agronomie EL- Harraach Alger, 171.p.
- AFNOR, 1981. Recueil de normes françaises. Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. AFNOR, Paris (France), 2ème édition.
- AFNOR, 1984. Recueil de normes françaises. Produits agricoles alimentaires : directives générales pour le dosage de l'azote avec minéralisation selon la méthode de Kjeldahl. AFNOR, Paris (France).
- AOAC, 1990. Official methods of analysis. Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists, (S. Williams, ed.), Assoc. of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Bernard M., Chapoutot P., Chatelet M., Jubert M., Morel d'Arleux F., Taccart M., Mariani M., Tierny M., 1991. Synthèse sur : La mélasse. Comité des sous-produits-RNED, Bovins, juillet, 19 pages.
- Bouaoun D., Aoun J., 2004. Elimination du phosphore, de l'ammonium et des nitrates par alternance de phases dans des réacteurs biologiques, revue francophone d'écologie industrielle, (35), 5.p.
- Bouguerra M., 2010. Etude de l'élimination des ions nitrate dans les effluents agroalimentaires au moyen d'un adsorbant organosilicate mésoporeux, mémoire de maître es sciences, Spécialité : Génie agroalimentaire, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation de l'Université Laval Québec, 106p.
- Bouquadida Ilham, 2012. Dosage d'alcool au cours de la production des levures. Mise en place d'une nouvelle méthode « colorimétrie », mémoire de Licence Sciences et Technique, spécialité : Génie chimique, faculté des sciences et techniques de l'université SIDI MOHAMED BEN ABDALLAH.
- Bourasse H., Bourega A., Khineche S., 2006. Influence des facteurs physiologiques et nutritionnels sur la production de la biomasse microbienne (levure boulangère), diplôme d'étude supérieure, spécialité : Biochimie à l'université de Kasdi Merbah- Ouargla, 78p.
- Cameroon-Agri-food Trade Statistical Factsheet, 2017.
- Cot M., 2006. Etudes physiologiques de l'adaptation et de la résistance de la levure *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la production intensive d'éthanol, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie et Biocatalyse industrielles, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, 265p.
- Devani M.B., Shishoo J.C., Shal S.A and Suhagia B.N., 1989. Spectrophotometrical method for determination of nitrogen in Kjeldahl digest, *JAOAC*, **72**: 953–956.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Roberts P.A. and Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, **28** 350–356.
- Fischer E. & Stein E.A., 1961. DNS colorimetric determination of available carbohydrates in foods. *Biochemical Preparation* **8**, 30–37.
- Flynn G. and Adams M. R., 1981. An industrial profile of yeast production, Report of the Tropical Products Institute, G153, iv + 8 pp, 56/62 Gray's Inn Road, London WC1 X 8LU, England, 12p.

- Fyferling M., 2007. Influence de l'oxygénation dans les milieux de cultures, Thèse de Doctorat en Microbiologie et Biocatalyse Industrielles, Spécialité : Sciences Ecologiques Vétérinaires Agronomiques Bioingénieries, Institut National des Sciences Appliquées de l'Université de Toulouse.
- Ganou B. Fährasmane L., 2011. Bilan de recherche à l'INRA sur la biotechnologie rhumière, INRA UMA, 1270 QUALITROP, F 97170, Petits-Bourg France, 10p.
- Gueye M., 2009. Synthèse et étude des charbons actifs pour le traitement des eaux usées d'une tannerie, mémoire de Master en énergie et procédés industriels à l'Institut International d'Ingénierie, de l'Eau et de l'Environnement, 61p.
- Kapseu César, Ali Ahmed, Paul Mingo Ghogomu, Carl Mbofung, Guy Martial Ndong Essengue, 2014. Sucrierie de canne en Afrique subsaharienne : procédés et métiers, Editions Harmattan, Cameroun, France, 236 pages. [www.edition-harmattan.fr](http://www.edition-harmattan.fr)
- Larsonneur S., Alarcon Morante F., Brabet C., and Chuzel G., 1993. Improving the breadmaking potential of cassava sour starch, *In* D. Dufour, G. M. O'Brien, and R. Best (Eds.), Cassava flour and Starch: Progress in research and development, 133–142.
- Lebeault J-M. et Bernon M., 1992. Les biotechnologies appliquées au traitement des déchets en Europe et aux Etats- Unis, Etat de l'Art, 420p, n°91-0401/1A.
- Levenspiel O., 1999. Handbook of Chemical Reaction Engineering, 3<sup>rd</sup> Edition, John Wiley & Sons, Inc., in the United States of America ISBN 0-471-25424, 684, 611–647.
- Mbougueng Pierre Désiré, 2009. Thèse, influence des amidons natifs ou acétylés de manioc et de pomme de terre sur les propriétés physico-chimiques et texturales du pâté de bœuf (*bos indicus*), Université de Ngaoundéré, et l'Institut National Polytechnique de Lorraine, 192p.
- Mostari R., 1993. Nouvelle approche de la cinétique fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* et de la conduite d'un procédé semi-continu : Modélisation de la croissance basée le bilan énergétique de la levure. Commande Prédictive et Floue, Thèse de doctorat en industries chimiques, spécialité : Biotechnologie et Industries Alimentaires, Ecole doctorale de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, 200.p.
- Nawel B., 2014. Valorisation des résidus agro-industriels, Rapport de recherche, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie de l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, 80 pages.
- Ouakouak A.K, youcef L., Achour S., 2013. Elimination des nitrates par adsorption sur charbon actif en poudre, N°17, Laboratoire de Recherche en Hydraulique Souterraine et de Surface – LARHYSS – Université de Biskra, Algérie, 93–97.
- Riess J., 2012. Intensification de la brique de « fermentation alcoolique » de substrats betteraviers (et autres substrats) pour la production d'éthanol, Thèse de Doctorat en Mécanique, Energétique, Génie civil et Procédés(MEGeP), spécialité : Génie des procédés et de l'environnement, Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse), 178p.
- Rodier J., Legube B., Merlet N., 2009. L'analyse de l'eau, 9<sup>ième</sup> édition, Dunod, Paris, 141–143.
- Roger P., Alazard D., Gaime-Perraud I., Garcia J-L., Labat M., Roussos S., 1999. Les recherches a l'IRD sur la dépollution et la valorisation de déchets agricoles et agro-industriels, Rapport scientifique du Laboratoire de Microbiologie de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) de Université de Provence, CESBBSIL, Case 925, 163 Avenue de Luminy, 13288, Marseille, Salon International de l'Agriculture 1-6 Mars 1999, Multigr. 13p.
- Shafaghat H., Ghasem D., Najafpour Pouya, Rezaei P.S., Sharifzadeh M., 2012. Optimal growth of *saccharomyces cerevisiae* (ptcc 24860) on pretreated molasses for the ethanol production: the application of the response surface methodology, *Chemical Industry & Chemical Engineering*, Quarterly edition, **16**(2), 199–206.
- Tadjia D., 2011. Préparation d'un charbon actif à partir des grains d'olives et application sur des rejets industriels, mémoire de magister, Spécialité : chimie industrielle, Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur Département de Chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Med-BOUDIAF d'Oran, 97p
- Tijksens L.M.M., Hertog M.L.A., Nicilai B.M., 2001. Food Process Engineering, Wood head Publishing Limited in Food Science and Technology, Cambridge England, ISBN: 1855735601, 510, 383–400.
- Van-Hoek P., Hulster E., Johannes P., Van-dijkens J.p., 1992. Effect of Benzoic acid on metabolic fluxes in yeast: a continuous study of respiration and alcoholic fermentation, *Yeast*, **8**(7), 501–517.