



Production de bioéthanol à partir de rebuts de dattes par fermentation en milieu solide

Ghobrini D^{#1}, Aïboud K^{#2}, Kebab L^{*}, Koumad L^{*} et Yakoub-Bougdal S^{*3}.

[#]Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelable.

¹ghdjillali@yahoo.fr

²K.aiboud@yahoo.fr

^{*}Laboratoire de culture in vitro et de cytologie expérimentale, UMMTO.

³ybougdal@yahoo.fr

Abstract— L'une des alternatives convenables pour remplacer les énergies fossiles est la production de bioéthanol à partir des déchets des industries agroalimentaires. En Algérie, des quantités importantes de rebuts de dattes sont générées à chaque campagne. Riches en sucre, ces rebuts peuvent être transformés par divers procédés biotechnologiques. La fermentation en milieu solide (FMS) est une technique qui permet de transformer des déchets agroindustriels en de nombreux produits à haute valeur ajoutée tel que l'éthanol. En ce sens, des essais en (FMS) ont été conduits à l'échelle de laboratoire sur des rebuts de dattes au moyen de levure *Saccharomyces cerevisiae*. Les cultures sont conduites sur un milieu de base contenant 2 % de sucre, le pH est ajusté à 4.5 avant autoclavage et une humidité relative de 68 %. Aux cultures nous additionnons la levure à hauteur de 10⁸ cellule/gramme de pulpe de dattes, puis mises en incubation à 30 °C durant 72 h. La fermentation en milieu solide révèle des rendements en éthanol très significatifs, le maximum de production est atteint après 48 h de culture.

Keywords— Bioéthanol, Fermentation en milieu solide, rebuts de dattes, *Saccharomyces cerevisiae*.

I. INTRODUCTION

Les activités agroindustrielles engendrent des quantités importantes de déchets riches en matières organiques qui pourraient constituer la base de plusieurs industries. Parmi ces dernières, la production du bioéthanol à partir des résidus agroindustriels peut constituer une solution de choix étant donnée la nécessité de remplacer les combustibles fossiles.

En Algérie, la production de dattes est estimée à 492.188 tonnes [1], dont 80.000 à 95.000 tonnes sont constituées de déchets de la Deglet-Nour et de dattes communes de faible valeur marchande [2]. Des essais expérimentaux sur la biotransformation de dattes et rebuts de dattes suggèrent que ce sont des matières appropriées pour la production de bioéthanol par fermentation directe (sans hydrolyse au préalable) [3, 4]. De même qu'ils constituent un avantage certain vu le faible coût de production d'éthanol, par rapport aux procédés qui utilisent l'amidon ou la cellulose entant que matières premières. En outre, les résidus solides de la datte,

après pressurage, (80 – 90 % du poids) contiennent d'abondantes fibres celluloses et glucidiques [5].

La fermentation en milieu solide (FMS) est une technique qui permet, d'une part, de transformer les résidus agroindustriels en de nombreux produits tels que les enzymes, les pesticides, les engrais, colorants, acides organiques, alcools, etc., et d'autre part, elle est plus sûre et permet de réduire les effluents des industries agroalimentaires [6, 7].

La production d'éthanol par fermentation en milieu solide à partir des sous produits et résidus agroindustriels, a fait l'objet de nombreux travaux, toutefois, et à notre connaissance, aucune étude n'a été menée sur ce bioprocédé appliqué aux résidus de dattes dans la région de Ghardaïa.

L'objectif de nos recherches est la production d'éthanol par fermentation en milieu solide (FMS) à partir de rebuts de dattes. De même, les résultats de ces essais seront comparés à une fermentation classique (submergée) (FSM), en outre, la diminution de la masse des résidus sera déterminée.

II. EXPERIMENTATION

A. Matériel

A. 1. Matériel Biologique

Le micro-organisme utilisé est la levure boulangère sèche, *Saccharomyces cerevisiae*, elle a été conservée dans des bocaux au sec et au frais. Cette souche n'a jamais été utilisée dans la fermentation des grignons de dattes, cependant, elle possède une haute tolérance pour l'éthanol lors de fermentations liquide du moût de datte [4].

A. 2. MATERIEL VEGETAL

Un mélange de rebuts de dattes et des écarts de tris de dattes de la variété Deglet-Nour est utilisé pour la présente étude. Ils proviennent des palmeraies de la région du M'Zab. Une fois que les dattes sont lavées, dénoyautées et broyées, elles sont ensuite immergées dans de l'eau distillée, à raison de 1 kg de pulpes de rebuts de dattes pour 2.5 litres d'eau, le tout est porté au bain marie à 85 °C pendant 45 min et sous agitation continue [8]. S'ensuit un pressurage puis une



Le 2^{ème} Séminaire International sur les Energies Nouvelles et Renouvelables

The 2nd International Seminar on New and Renewable Energies

Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables,
Ghardaïa – Algérie 15, 16 et 17 Octobre 2012



filtration à travers du papier Wattman N° 4 afin d'en extraire le jus.

B. Méthodes

1) Les étapes de la culture

Les procédés de culture ont été mis au point en se basant sur les travaux de Vaughan-Martini et collaborateurs et en conditions d'asepsies [9]

1.1) *Les milieux d'activation (préparation de l'inoculum):* Cette étape a pour but d'adapter notre souche de levure aux milieux de fermentation utilisés.

Les inocula de la fermentation sont réactivés (préculture) en un milieu liquide **YEPG** constitué de 10 g/l de levure, 20 g/l de peptone de Soja (elle contient un niveau de protéine élevé, des acides aminés essentiels équilibrés, de la vitamine complexe de B, de l'acide nucléique, des micro-éléments etc..) et 20 g/l de glucose.

Une deuxième réactivation (préfermentation *sensu stricto*) est réalisée en un milieu liquide **YEPG** auquel nous avons additionné du moût de datte (**YEPGM**) (50 % v/v) [10].

1.2) *Les milieux de fermentation :* dans cette étude, deux types de milieu de fermentation ont été utilisés.

1.2.1) *Fermentation en milieu solide :* elle est conduite dans des boîtes de Pétri sur le grignon de datte récupéré du filtra, séché et stérilisé dans une étuve à 120 °C pendant 30 min, auquel nous avons additionné le moût de dattes pour obtenir l'humidité et la concentration en sucre approprié. À la culture nous additionnons la levure à hauteur de 10⁸ cellule/gramme de pulpe de datte sèche, les cellules sont issues de la deuxième préfermentation centrifugées, puis lavées deux fois à l'eau et remis en suspension dans de l'eau stérile désionisée.

1.2.2) *Fermentation en milieu liquide (submergée):* les cultures sont conduites dans des Erlenmeyer de 250 ml de volume, dans lesquels nous avons versé 100 ml de moût de datte avec une concentration de 100 g/l, inoculé avec une concentration équivalente qu'en fermentation en milieu solide. Une soupape Müller vient clôturer la fiole de manière aseptique permettant uniquement au CO₂ de s'échapper du système, contenant 90 % d'acide sulfurique.

Les cultures sont conduites en anaérobies, dans des incubateurs, sous agitation continue 160 tr/min, pour les milieux liquides, à (30 ± 2) °C, durant, respectivement, 48 h et 24 h pour les préfermentations et 72 h pour les essayent de fermentations, le pH est ajusté à 4.5 avant autoclavage. L'autoclavage des milieux se fait par tyndallisation, une technique qui consiste en une série de trois autoclavages de 30 min chacun espacés de 24 h à 110 °C. A noté que les jus sucrés et le mélange de peptone avec l'extrait de levure sont

stérilisés séparément pour éviter la réaction de Maillard (la caramélisation).

2) *Détermination de l'éthanol, des sucres résiduels, du pH et de la matière sèche*

Les mesures sont effectuées par prélèvement direct, au début chaque 2 h, et puis chaque 24 h, en conditions d'asepsie, de 2 ml de la solution sur les milieux de cultures liquides, le volume est centrifugé à 1600 tr/ min pendant 10 min; alors que pour les milieux solides les extraits ont été réalisés par un mélange de deux volumes d'eau froide à 4 °C avec une unité de poids de la matière solide, après passage sous agitateur vibreur à 250 vib/ min, pendant 10 min, le tout est centrifugé à 3500 tr/ min durant 15 min [10].

Dans les deux cas la fraction du surnageant est récupérée à part pour déterminer le taux d'éthanol, la quantité de sucres résiduels et la mesure du pH.

Les teneurs en sucres totaux et d'éthanol sont déterminées par HPLC (TSP Spectra System) disposé d'une colonne (Biorad Aminex HXP-87H) spécifique pour la séparation des alcools, acides organiques et des sucres.

La perte de poids et la teneur en eau, déterminée par un analyseur d'humidité (Ohaus à lampe halogène), sont mesurées pour les échantillons de la fermentation en milieu solide et le pH est mesuré par un pH mètre Hanna 110 série.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés principalement à la production d'éthanol obtenus avec deux types de supports.

Les résultats obtenus font clairement ressortir que la formation d'éthanol est plus importante par fermentation en milieu solide par rapport à la fermentation en milieu liquide (Fig. 1).

Par ailleurs, la production d'alcool évolue progressivement au cours de la fermentation submergée (FSm), pour atteindre 7.41° après 24 h puis 8.8° en 48 h pour se stabiliser au tour de 9° au bout de 72 h. Pour ce qui est de la fermentation en milieu solide (FMS), les résultats obtenus montrent que l'évolution du degré d'alcool n'augmente que durant les premières 48 h, où la valeur maximale est de 14°, puis décline considérablement par la suite pour avoisiner les 12° à la fin de la fermentation.

Nos résultats en FSm corroborent les observations de plusieurs auteurs notamment [11]. Toutefois, les teneurs obtenues dans cette étude restent moyennement faibles, par rapport à celles trouvées par [3, 12], reste que dans ce cas les milieux de culture ont été améliorés par ajout d'une source d'azote notamment du phosphate d'ammonium auxquelles sont associés des vitamines. Concernant la FMS le degré alcoolique est élevé comparé à ceux trouvés par [3, 13]. En outre, les teneurs élevées en alcool seraient tributaires d'une part, de la concentration en sucre qui est plus



importante (175 g/l), et d'autre part, à la présence de sources non négligeables en protéines dans le grignon de datte [5], qui peuvent être assimilées par la levure utilisée [10]. Ainsi, plusieurs travaux signalent qu'un apport en azote aux cultures améliore les rendements en biomasses et assure une assimilation soutenue des sucres [3].

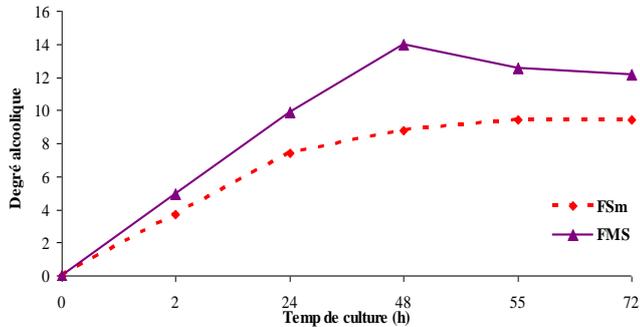


Fig. 1 Evolution du degré alcoolique en fonction de la durée de culture en milieu solide et liquide

Par ailleurs, la diminution très marquée des teneurs en éthanol enregistrée après 48 h de fermentation, malgré la présence marquée de sucre dans le milieu (jusqu'à 122.5 g/l), serait le résultat des concentrations élevées en éthanol qui peuvent être inhibitrices de la croissance des levures, bien que les sucres n'ont pas été épuisés. A cet effet, des études ont montré que des concentrations même faibles en alcool, inférieures à 6 % entraînent une inhibition partielle et irréversible des enzymes de la glycolyse [14, 15, 16], alors que l'inhibition est totale à 10 % et plus [16].

Aussi, une éventuelle perte d'éthanol par évaporation n'est pas à exclure au vu de la température de fermentation 30 °C dans nos conditions de culture.

Il est à noter qu'au cours du temps le pH tend à diminuer, résultat de la formation d'alcool dans la FMS et FSm, respectivement, 3,8 et 3,5 après 72h de culture.

En outre, au cours de notre étude la plupart des sucres fermentescibles ont été consommés au niveau de la fermentation solide et submergée, respectivement 79.2 % et 82.15 % (Fig. 2).

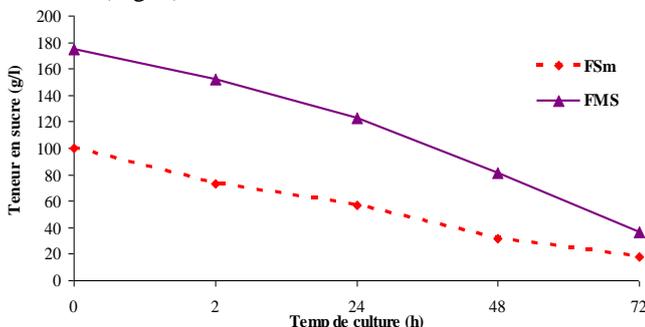


Fig. 2 Evolution des teneurs en sucres résiduels au cours de la fermentation alcoolique en fonction de la durée de culture en milieu solide et liquide

Ainsi, les résultats des teneurs en sucres résiduels montrent que la quantité en sucre initiale en FMS est plus élevée qu'en FSm, cela en raison, entre autre, de la présence dans les grignons de dattes de sucres non complètement extraits lors de l'extraction du jus.

Par ailleurs, nous notons que les teneurs élevées en sucres n'ont pas été inhibitrice du fonctionnement des levures. De même qu'aucune phase de latence n'a été observée dans la production d'éthanol. Ce qui implique que le temps de réactivité de notre souche sur les deux milieux est très réduit.

Aussi les résultats montrent que la teneur en sucre diminue au fur et à mesure que la production d'éthanol augmente pour atteindre 36.4 et 17.85 g/l, respectivement en culture solide et submergée, au bout de 72 heures de fermentation, cette concomitance correspond à un comportement normal de la fermentation alcoolique dans les deux milieux.

Un aspect important à considérer lors de fermentation en milieu solide des déchets agroindustriels, est sa contribution à la réduction de la masse résiduelle [17].

Ainsi, la perte en poids sec enregistrée après 72 h de culture en FMS par rapport au poids sec initial (gramme du grignon de datte au stade final/ gramme du grignon de datte au stade initial x 100) est de 240,392 mg/g, ce qui correspond à 24 % du poids total, ce qui rejoint en moyenne celles obtenues par [10, 18]. Selon Gaitan-Hernandez et collaborateurs, les proportions dépendent de la nature et des teneurs de la matière organique, ainsi que des conditions de culture [18].

Ce résultat est important du point de vue traitement de déchets. Car cet aspect de la FMS contribue non seulement à la réduction des déchets, mais les effluents de la FMS peuvent contribuer à l'élaboration d'autres produits commercialisables destinés à d'autres secteurs [7, 17], ainsi, les résidus de notre FMS peuvent être utilisés comme engrais, ou même pourquoi pas proposés comme additifs alimentaires pour le bétail.

IV. CONCLUSIONS

Les résultats montrent que les rendements dans la production d'éthanol à partir de rebuts de dattes variété Deglet-Nour sont plus importants lors de fermentation en milieu solide qu'en milieu liquide. Ainsi, le temps de fermentation en FMS est réduit et la concentration maximale est obtenue après 48 h de culture. Par ailleurs, elle permet de réduire les résidus de façon très significative.

Les avantages que procure la fermentation en milieu solide, tant sur le plan économique que technologique peut ouvrir la voie à des recherches plus approfondies pour l'optimisation de ce système à grande échelle.

REFERENCES

- [1] Anonyme, Statistiques Agricoles, Palmier dattier, superficies et production. Ministère de l'Agriculture, D.S.A.S. Ed., Série B, Alger, Algérie, 2006.



**Le 2^{ème} Séminaire International sur les Energies Nouvelles et
Renouvelables**
**The 2nd International Seminar on New and Renewable
Energies**

**Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables,
Ghardaïa – Algérie 15, 16 et 17 Octobre 2012**



- [2] Anonyme, Statistique agricoles, superficies et production, Ministère de l'Agriculture, D.S.A.E.E., Série A, Alger, Algérie, 2001.
- [3] S. Acourène, A. Ammouche et K. Djaafri, "Valorisation des rebuts de dattes par la production de la levure boulangère, de l'alcool et du vinaigre," *Sciences & Technologie*, vol. 28(C), pp. 38 – 45, Déc. 2008.
- [4] A. Boulal, B. Benali, M. Moulai et A. Touzi, "Transformation des déchets de dattes de la région d'Adrar en bioéthanol," *revue des Energies Renouvelables*, vol. 13 (3), pp.455 – 463, Sep. 2010.
- [5] S. Cheikh-Roulou, S. Baklouti, N. Hadj-Taïeb, S. Besbes, S. Chaabouni, C. Blecker et H. Attia, "Elaboration d'une boisson à partir d'écart de triage de dattes : clarification par traitement enzymatique et microfloraison," *Fruits*, vol. 61 (6), pp. 389 – 399, Nov. 2006.
- [6] A. Pandey, C. R. Soccol et D. Mithell, "new developments in solid state fermentation: bioprocesses and products," *Process Biochem.*, vol. 35, pp. 1153 – 1169, Jul. 2000.
- [7] S. Rodriguez-Couto et M. A. Sanroman, "Application of solid state fermentation to food industry – a review," *J. Food Eng.*, vol. 76, pp. 296 – 302, Oct. 2006.
- [8] S. Acourène et M. Tama, "Utilisation des dattes de faible valeur marchande (rebut de Deglet-Nour, Tinissine et Tantboucht) comme substrat pour la fabrication de la levure boulangère," *Revue des Energies Renouvelables : Production et Valorisation – Biomasse*, pp. 1 – 10, 2001.
- [9] A. E. Vaughan-Martini et A. Martini, "Determination of ethanol production, In: The yeasts: a taxonomic study," 4th ed., C. P. Kurtzman et J. W. Fell, Ed. Elsevier, Amsterdam, Netherland, 1998.
- [10] L. A. Rodriguez, M. E. Toro, F. Vazquez, M. L. Correa-Daneri, S. C. Gouiric et M. D. Vallejo, "Bioethanol production from grape and sugar beet pomaces by solid-state fermentation," *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 35, pp. 5914 – 5917, Jan. 2000.
- [11] A. Touzi, "Production d'éthanol à partir des déchets de dattes," *Rev. Rech. Agro.*, vol. 1, pp. 53 – 58, 1997.
- [12] H. K. Al-Ogaidi, R. Muslh et N. M. Ali, "Isolation and identification of some Iraqi local ethanol production yeast grown on date juice," *Date Palm Journal*, vol. 6 (2) N° 12, pp. 433 – 446, 1988.
- [13] N. Boughnou, "Essai de production de vinaigre à partir des déchets de dattes," Thèse de Magister en Sciences Alimentaire, ENSA, El Harrach, Algérie, Jun. 1988.
- [14] M. Raimbault (1998) General and microbiological aspects of solid substrate fermentation EJB Electronic. Journal of Biotechnology, 1. [Online]. Available: <http://www.ejb.org>
- [15] S. Hayshida et K. Ohta, "Formation of high concentrations of alcohol by various yeasts," *Journ. Inst. Brew.*, vol. 87, pp. 542 – 543. 1981.
- [16] A. Aguilera et T. Benitez, "Éthanol-sensitive mutants of *Saccharomyces cerevisiae*," *Archives of Microbiology*, vol. 143(4), pp. 337 – 344, 1986.
- [17] A. Pandey, C. R. Soccol, P. Nigam et V. T. Soccol, "Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse," *Bioresource Technology*, vol. 74 (1), pp. 69 – 80, Aug. 2000.
- [18] R. Gaitan-Hernandez, M. Esqueda, A. Gutierrez, A. Sanchez, M. Beltran-Garcia et G. Mata, "Bioconversion of agrowastes by *lentinula edodes*: the high potential of viticulture residues," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 71, pp. 432 – 439, Jul. 2006.