

ETUDE DE LA PRODUCTION DE LEVURE BOULANGERE (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) CULTIVEE SUR MOÛT DE REBUTS DE DATTES

PRODUCT ENGINEERING OF YEAST BAKER (SACCHAROMYCES CEREVISIAE) CULTIVATED ON MUST OF DATES REJECTS

OULD EL HADJ M. D., BITOUR Z., SIBOUKEUR O.

Laboratoire Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi-Arides
Université KASDI MERBAH-Ouargla (Algérie)
E-mail: mohameddidi@yahoo.fr

RESUME

Le moût issu de rebuts de dattes, de par sa richesse en sucres simples constitue un milieu favorable pour le développement des levures. Mais sa faible teneur en azote et en éléments nutritifs, est un facteur limitant. Elle doit être comblée par des sels minéraux (sulfate d'ammonium, phosphate d'ammonium et du sulfate de magnésium) et de l'urée. L'étude, deux types de milieu (non enrichi et enrichi) ayant chacun différentes concentrations en sucres totaux (2%, 3%, 5% et 6%), ont été testés. Les résultats des rendements pondéraux obtenus avec les moûts enrichis sont plus intéressants que ceux obtenus avec les milieux non enrichis. Le milieu enrichi à 2% de sucres totaux semble meilleur dans la mesure où la production de *Saccharomyces cerevisiae* s'est déroulée dans un temps relativement court avec un rendement de 31%, et la consommation des sucres a été totale.

MOTS CLES: Rebut de dattes, moût, *Saccharomyces cerevisiae*, sucres, azote.

SUMMARY

Must resulting from date's rejects, according to its richness in simple sugar, constitutes a favourable medium for the yeast development. But it is limited by its content in nitrogen and nutrients. It must be corrected by mineral salts such that ammonium sulphates, ammonium phosphate, Magnesium sulphate and urea. The study of two media (enriched and non-enriched) with different total sugar concentration (2%, 3%, 5% and 6%) have been carried out. The weight efficiencies results of the enriched must are more interesting than those of the non-enriched medium. The enriched medium in 2% of total sugar seems to be the best results to its production of *Saccharomyces cerevisiae*, which has been done during a short spam of time, and its efficiency is of 31% and the consumption of sugar was total.

KEY WORDS: Rejects of date, must, *Saccharomyces cereviae*, sugar, nitrogen.

1 INTRODUCTION

Le potentiel phoenicicole algérien enregistre un accroissement important avec un effectif qui avoisine 15 millions de palmiers dattiers pour une superficie de plus de 350.000 ha; dont 11 millions productifs [1]. Pour une campagne déterminée, la production nationale peut atteindre 500.000 tonnes, dont 240.000 tonnes représentant environ 47% de Deglet Nour, considérée comme étant la meilleure variété de dattes commerciales, permettent à l'Algérie de se hisser au premier rang mondial du point de

vue qualitatif; alors que près de 2600.000 tonnes soit 53%, sont de variétés dites communes [1][2]. Parmi ces derniers, 120.000 tonnes seulement sont commercialisables et plus de 14.000 tonnes sont de très faibles valeurs marchandes[3].

L'Algérie importe 18.000 tonnes par an de mélasse de betterave sucrière, et plus 13.000 tonnes par an de mélasse de canne. De même, elle importe la souche de levure «*Saccharomyces cervisiae*» tous les quatre ans; pour la production de levure boulangère [4][5]. Ceci dans le but de satisfaire les besoins de la population en pain qui sont de

plus en plus très élevés, et la demande en levure est proportionnelle.

L'Algérie possède un potentiel énorme en biomasse dans le Sud du pays. Il est constitué des déchets générés par la palmeraie et des industries de conditionnement des dattes. Il s'agit des déchets de dattes (écarts de tri, dattes par ténocarpiques,...) et des dattes communes, qui s'écoulent difficilement sur le marché. La bioconversion des sous produits issus de la palmeraie pourrait constituer un programme d'avenir pour le développement de l'agriculture saharienne [3]. Face à ce constat, le présent travail porte sur l'étude des possibilités d'utilisation du moût de rebuts de dattes comme substitut de la mélasse dans la production de *Saccharomyces cerevisiae*.

2 1. METHODOLOGIE DE TRAVAIL

2.1 Matériels

2.1.1 Matériel végétal

Un mélange de rebuts de dattes («H'Chef») et des écarts de tris de dattes, destinés à l'alimentation de bétail, est utilisé pour la présente étude. Ce choix a été orienté par leur faible valeur marchande, leur richesse en sucre et leur disponibilité.

2.1.2 Matériel biologique

Le micro-organisme utilisé est la levure boulangère *Saccharomyces cerevisiae* nommée «VDH₂». C'est une souche pure importée et utilisée à la levulerie de «Oued Smar» à Alger. La souche a été conservée sur gélose inclinée 4°C. Pour permettre aux levures de garder leur vitalité, des repiquages sont effectués chaque mois.

2.2 Méthodes

2.2.1 Préparation du moût

Après triage manuel des rebuts et des écarts de tris de dattes pour éliminer les particules tels que les pierres, les cailloux, les débris végétaux, etc., ils sont lavés à l'eau du robinet. Après un égouttage et un dénoyautage, les pulpes ont été découpées. Elles sont ensuite immergées dans de l'eau distillée à 75-80°C, à raison de 1 Kg de pulpes de rebuts de dattes pour 4 litres d'eau distillée et le tout porté au bain-marie à 70°C pendant 45 minutes, sous agitation continue [6].

Une filtration à l'aide d'un tissu gaze et un pressurage permettent d'extraire le maximum de jus. Une stérilisation humide par procédé de tyndallisation, est réalisée par autoclavage sous agitation continue afin de réduire la charge microbienne et diminuer ainsi la compétition entre celle-ci et *Saccharomyces cerevisiae*, sans provoquer la dégradation thermique des sucres.

2.2.2 Préparation des lots expérimentaux

Dans un but comparatif, deux types de milieux sont préparés, l'un non enrichi (milieu N) et l'autre enrichi (milieu E). A partir des deux solutions mères (N et E), quatre lots expérimentaux à différentes concentrations, ont été constitués pour chaque milieu:

- - Lot 1: 2% de sucres totaux
- - Lot 2: 3% de sucres totaux
- - Lot 3: 5% de sucres totaux
- - Lot 4: 6% de sucres totaux

Vu la faible teneur du moût en éléments nutritifs, essentiellement en protéines et en sels minéraux pour favoriser la multiplication des micro-organismes, chaque lot du milieu E est enrichi avec les sels ci-dessous à différentes proportions:

- - Sulfate de magnésium : 0,2 g/l
- - Phosphate diamonique : 2,4 g/l
- - Sulfate d'ammonium : 2,6 g/l
- - Urée : 2,4 g/l

Le pH des différents lots expérimentaux est ajusté à 4,5 par une solution d'acide sulfurique normale.

2.2.3 Préparation de l'inoculum

Les souches entretenues sur milieu gélosé incliné doivent être réactivées sur milieu de préculture identique aux milieux de culture. A cet effet, nous prélevons à l'aide d'une anse stérile des colonies de la levure que nous ensemençons dans un erlenmeyer de 2000 ml contenant 300 ml de moût pour la préculture qui dure 18 heures à 30 ± 2°C. dans les mêmes conditions de multiplication que les différents milieux à étudier.

2.2.4 Conduite de la culture

La culture est conduite dans un fermenteur constitué d'un récipient en verre d'une capacité de 4,5 litres, plongé dans un Bain-marie afin de maintenir la température à 30 ± 2°C. Une pompe à air assure l'aération du milieu. L'agitation se fait grâce à un agitateur magnétique (barreau magnétique). Les solutions sont inoculées à raison de 250 ml de préculture pour 4 litres de moût. Puis le processus de multiplication des levures est déclenché. Elle est menée en aérobiose et suivie pendant 24 heures.

Pour suivre l'évolution de la biomasse microbienne, on procède à toutes les 2 heures à des prélèvements de 10 ml en vue de l'étude de la cinétique de croissance des levures.

2.2.5 Détermination de la biomasse

L'évolution de la biomasse est suivie par comptage hématimétrique (cellule de Malassez) de la population

microbienne sous microscope (G: 10x10) [7]. Cette méthode permet l'étude du temps de latence, le taux de croissance et le temps de génération [8][9][10][11]. A la fin de l'opération; le volume du milieu de culture restant est mesuré, puis centrifugé à 3500 tours/mn pendant 15 minutes. Le culot est récupéré et lavé à plusieurs reprises avec de l'eau distillée, et puis servira ensuite à déterminer le poids sec. La fraction de surnageant est récupérée à part pour déterminer la quantité de sucres résiduels.

Le rendement pondéral est déterminé par le rapport entre la quantité de biomasse formée en poids sec à la fin de la phase de croissance et la quantité de sucres consommés [8][10][11].

2.2.6 Dosage des sucres

Deux méthodes de dosage ont été effectuées. Il s'agit de la méthode classique de Bertrand (sucres réducteurs) et celle de Clerget (sucres totaux) [12].

2.2.7 Dosage des protéines

La teneur totale en azote des pulpes et du moût, est déterminée par la méthode de Kjeldahl.

2.2.8 Dosage de la matière sèche

La matière sèche est déterminée par dessiccation d'une prise d'essai dans une étuve à 105° C pendant 24 heures jusqu'à obtention d'un poids constant [12].

2.2.9 Dosage des cendres

Les cendres totales sont déterminées par incinération. Un étuvage à 105° C pendant 24 heures des échantillons, est suivi par une calcination au four à moufle (1 heure à 600° C. environ).

2.2.10 pH

La détermination du pH est essentielle pour le contrôle du moût, avant et au cours de l'évolution de biomasse. La variation du pH renseigne sur l'activité métabolique du champignon. Elle s'effectue à l'aide d'un pH-mètre (marque Karl Kolb) préalablement étalonné.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Composition physico-chimique des pulpes et de la solution mère de moût

La composition des pulpes et de la solution mère de moût obtenue à partir des pulpes de rebuts et des écarts de tris de dattes, est consignée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractérisation physico-chimique des pulpes et de la solution mère de moût

| Produits Caractère | Pulpes de rebuts et écarts de tris de dattes | Moût |
|-----------------------|--|--------------|
| Matière sèche (%) | 83,04 ± 1,42 | 11,2 ± 1,07 |
| Humidité (%) | 16,96 ± 0,81 | 88,8 ± 2,57 |
| pH | 5,77 ± 0,53 | 5,11 ± 0,32 |
| Cendres (%) | 2,76 ± 0,12 | 1,78 ± 0,05 |
| Sures totaux (%) | 66,5 ± 1,31 | 16,64 ± 1,08 |
| Sucres réducteurs (%) | 55,3 ± 1,46 | 13,75 ± 0,66 |
| Saccharose (%) | 10,65 ± 1,05 | 2,74 ± 0,11 |
| Protéine (Nx6,25)(%) | 1,75 ± 0,06 | 1,05 ± 0,15 |

La teneur en sucres totaux dans le moût de la solution mère est égale à 16,64 ± 1,08%, avec un taux de saccharose de l'ordre de 2,74 ± 0,11%. Les protéines au taux de 1,05 ± 0,15% restent faibles. Néanmoins, les paramètres qui renseignent sur l'évolution des levures demeurent essentiellement: la production de biomasse et l'assimilation des sucres. Le tableau 1, laisse apparaître des caractéristiques physico-chimiques semblables entre les pulpes et la solution mère de moût. Les pulpes de rebuts et des écarts de tris de dattes utilisées ont des caractéristiques physico-chimiques comparables à celles des dattes signalées par des auteurs tels que DOWSON et ATEN [13], MUNIER [14], RIVIERE [11], ACOURENE [15], HAMDOD [16], CHEIKH [17], OULD EL HADJ [6]. Selon BOUGHNOU [4], le moût de rebut et des écarts de tris de dattes serait riche en éléments minéraux notamment en potassium et en phosphore mais pauvre en magnésium.

3.2 Cinétique de fermentation

Après 24 heures de fermentation des moûts une dégradation remarquable des sucres est relevée. Les résultats de la cinétique de croissance des levures dans les différents lots sont consignés dans le tableau 2.

Le tableau 2, montre une différence apparente de la cinétique de croissance entre les lots des milieux E et N. Dans le moût non enrichi, la durée de la phase de latence varie de 2 heures 32 minutes à 3 heures 26'. Elle est plus courte dans les milieux enrichis où elle se stabilise entre 2 heures et 2 heures 3 minutes. La durée de ce temps d'adaptation de la souche de *Saccharomyces cerevisiae* varie en fonction de la souche utilisée mais aussi avec la richesse du milieu en éléments nutritifs [8][9]. Cependant le taux de croissance pour les différents milieux testés va de 0,19 pour le milieu non enrichi à 0,41 pour le milieu enrichi. BELIN (1989) cité par BOTON et al. [18], note que le taux de croissance de *Saccharomyces cerevisiae*

cultivé sur milieu favorable est compris entre 0,3 et 0,47 H⁻¹. Au vu des résultats respectifs des différents milieux, il apparaît que le moût de datte enrichi ou non demeure un milieu favorable pour le développement des levures. Mais en comparant aux résultats rapportés par BOTON et al. [18] les lots des milieux enrichis semblent plus favorables au développement de la souche «VDH₂» de *Saccharomyces cerevisiae* utilisée pour la présente étude. BEN ABDESSALAM [19], note qu'en levulerie, où des fortes densités cellulaires et une conversion maximale de substrat en substance cellulaire sont recherchées pour des raisons économiques le taux de croissance spécifique est comprise entre 0,05 à 0,3 H⁻¹. Car le temps de génération est le temps

nécessaire au dédoublement de la population, il est inversement proportionnel au taux de croissance. Donc plus le taux de concentrations est grand, plus le temps de génération est faible ou réduit. Le temps de génération dépasse 2 heures, d'une manière générale dans les lots des milieux N, et ce pour les différentes concentrations en sucres. Dans le même milieu la concentration à 6% de sucres présente un temps de génération de 2 heures 18 minutes. Cependant, en comparant les milieux enrichis et ceux non enrichis, un gain de temps de près de 40 minutes sur le temps de génération est perceptible pour les lots enrichis.

Tableau 2 : Caractéristiques de la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* des différents lots

| Dilution Milieux | 2% | | 3% | | 5% | | 6% | |
|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | N | E | N | E | N | E | N | E |
| Phase de latence (H) | 3H26' | 2H | 2H32' | 2H03' | 3H | 2H01' | 3H | 2H02' |
| Taux de croissance (H ⁻¹) | 0,14 | 0,41 | 0,26 | 0,37 | 0,27 | 0,39 | 0,19 | 0,38 |
| Temps de génération (H) | 2H55' | 1H56' | 2H59' | 1H42' | 2H36' | 1H55' | 2H18' | 1H36' |

3.3 Rendement pondéral

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés uniquement aux rendements obtenus avec différentes concentrations en sucres sur milieux enrichis. La consommation des sucres était totale pour les dilutions 2, et 3%, mais on note des traces de sucres pour les concentrations de 5 et 6% de sucres (Tab.3). MONOD [8], signale qu'au moment où la croissance s'arrête, il ne reste plus de trace de source limitante.

Tableau 3 : Rendement des différents lots enrichis

| Dilution enrichie Variables | 2% | 3% | 5% | 6% |
|---------------------------------|-----|------|------|------|
| Biomasse en matière sèche (g/l) | 6,2 | 6,9 | 7,1 | 7,2 |
| Sucres consommés (g/l) | 20 | 30 | 48 | 54 |
| Rendement (%) | 31 | 23,3 | 14,7 | 13,3 |

La biomasse des quatre dilutions se rapproche entre elles, et varie de 6,2 à 7,2; donc la différence n'est pas notable. Les rendements rassemblés dans le tableau 3 vont de 13,3% pour la dilution 6% à 31% pour celle de 2%. Le rendement en levure est inversement proportionnel à la dilution. En effet le rendement est fonction de la souche utilisée et des conditions de cultures, notamment le pH, la température et l'aération, l'agitation [7]. Ces rendements en comparaison avec les données bibliographiques obtenues avec la mélasse qui sont de l'ordre de 60% [20], semblent faibles. Mais ils se rapprochent de ceux trouvés par DERKAOUI (1985) [21] sur substrat de farine de rebut de dattes qui est de l'ordre de 44,2%, et de ceux trouvés par ALOGAIDI [22]

qui sont de l'ordre de 220 kg de levures sèche, genre *Candida* pour une tonne de datte.

Le moût issu du mélange des rebuts et des écarts de tries de dattes constitue un milieu riche en sucres simples facilement assimilable. Il peut donc servir comme milieu pour le développement des levures notamment quand on enrichit ce moût par les sels minéraux. Afin d'éviter les rendements faibles les conditions de contrôle du pH, de la température et de l'aération-agitation doivent être maîtrisées. Le débordement de la mousse est à éviter. C'est un phénomène qui apparaît avec les concentrations élevées en sucres dans les moûts suivi d'une aération faible. Puisque l'excès de substrat en hydrate de carbone entraîne la production de l'alcool au dépend de la biomasse, car entre 4% et 5% d'alcool, la croissance des levures est inhibée. De même, un excès de substrat en hydrate de carbone inhibe la synthèse de enzymes respiratoires. Le métabolisme est donc fermentaire quelque soit le niveau d'aération [23]. SASSON [24], signale que les acides gras, en particulier l'acide octanoïque et l'acide decanoïque, formés par les levures à la concentration de quelques milligrammes par litre, deviennent toxiques pour la levure. Pour remédier à ce phénomène, une pincée de charbon était additionnée aux moûts avant ensemencement pour faciliter la reprise.

Le meilleur rendement obtenu au cours de notre étude est atteint avec le moût à 2% des sucres affichant un rendement de 31% (Fig. 1). Le meilleur milieu de culture en biochimie industrielle est celui qui assure la meilleure production dans le plus court délais et dont le prix de revient est plus bas possible.

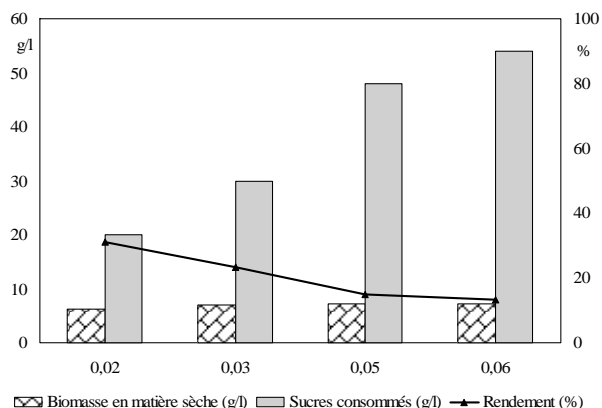


Figure 1 : Rendement des différents lots enrichis

4 CONCLUSION

Le moût élaboré à partir de rebuts de dattes est un milieu riche en sucres, convenant à la culture des levures de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* pour la production de levure boulangère. La possibilité d'une substitution des dattes à la mélasse de canne en vue de produire de levure s'avère possible. Les résultats obtenus ont montré que le moût enrichi est plus intéressant que le moût non enrichi. La concentration 2% de sucres totaux sur milieu enrichi paraît la meilleure du point de vue rendement et temps de production. Car pour une meilleure production d'organismes unicellulaires, il est toujours recherché un temps record de production avec un prix de revient bas. Au vu des rendements encourageants obtenus, les rebuts de dattes peuvent être valorisés par des procédés biotechnologiques au lieu de leur utilisation dans l'alimentation de bétail.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] SAOULI, N. 2005. Préambule du recueil des résumés. Journées d'étude sur la transformation des produits du palmier dattier, Biskra, les 6 et 7 décembre 2005:1-2.
- [2] FELIACHI S, 2005. La transformation des produits du palmier dattier: potentiel et atouts-problématique-opportunités-thématique. Journées d'étude sur la transformation des produits du palmier dattier, Biskra, les 6 et 7 décembre 2005, 18 p.
- [3] TOUZI A., 2005. Production de substances à forte valeur ajoutée à partir des produits de la palmeraie algérienne. Journées d'étude sur la transformation des produits du palmier dattier, Biskra, les 6 et 7 décembre 2005: 6-7.
- [4] BOUGHNOU N., 1988. Essai de production de vinaigre à partir des déchets de dattes. Thèse magister; INA, El Harrach, Alger, 81 p.
- [5] OND, 1992. Transformation et valorisation des dattes et sous produits des dattes. Recueil des recommandations. Symposium de la datte. Biskra, les 24 et 25 Novembre 1992.
- [6] OULD EL HADJ D. M., 2001. Etude comparative de la productivité d'alcool brut de dattes selon les variétés. Recherche Agronomique, N° 9, INRA-Alger : 91-99.
- [7] GIRARD H. et ROUGIEUX R., 1958. Techniques de microbiologie agricole. Ed. Dunod, Paris: 80-90.
- [8] MONOD J., 1942. Recherche sur la croissance des cultures bactériennes. Ed. Hermanet et Cie, Paris, 210p.
- [9] LAMBIN S. et GERMAN A., 1969. Précis de microbiologie. Ed. Masson et Cie, Paris: 30-100.
- [10] SIMON M., 1970; microbiologie industrielle et génie biochimique. Ed. Masson et Cie, Paris, 549 p.
- [11] RIVIERE J., 1975. Applications industrielles de la microbiologie. Ed Masson et Cie, 203 p.
- [12] AUDIGIE C., DUPONT G., ZONSAIN F., 1983. Principes des méthodes d'analyse biochimique. Ed. Doin, T. 2, Paris, 144 p.
- [13] DOWSON W. et ATEN A., 1963. Récolte et conditionnement des dattes. Ed. FAO, Rome: 6-44.
- [14] MUNIER P., 1973. Le palmier dattier. Ed. Maison Neuve et Larose, Paris, 367 p.
- [15] ACOURENE S., 1992. Caractérisation physico-chimique des principales variétés de dattes et valorisation de la datte. Recueil des communications. Symposium de la datte, Biskra, les 24 et 25 Novembre 1992, 4 p.
- [16] HAMDOUN I., 1994. Essai de production de levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*) sur les moûts de 3 variétés de dattes communes (Assabri, Degla Beida, Tacherwit). Thèse ing. agron., INFS/AS, Ouargla, 46 p.
- [17] CHEIKH M., 1994. Contribution à l'étude de la production d'alcool et de vinaigre par 4 variétés de dattes communes (Degla Beida, Techerwit, Hamraya et Assabri) de la cuvette de Ouargla. Thèse ing. agro., INFS/AS, Ouargla, 40 p.
- [18] BOTON B., BRETON M., FEVRE S., GAUTIER P., GUY S., ANGLIER Y., VAYSSIER P., 1985. Biotechnologies, moisissures utiles et nuisibles. Importances industrielles. Ed. Masson, Paris: 11-303, 365-383.
- [19] BEN ABDESSALAM A., 175. Production optimale des levures à partir de la mélasse locale. Thèse ing., INA, El Harrach, 52 p.
- [20] MOUKIL B., 1982. Identification de deux souches de levures isolées de la mélasse et des nèfles. Aptitudes à la fermentation. Thèse ing., INA, El Harach, 37 p.
- [21] DERKAoui F., 1985. Essai de valorisation des rebuts de dattes par voie biologique. Thèse ing., INA, El Harach: 60-70.
- [22] ALOGAIDI H. K. H., 1981. Production of single cell protein from yeast growing on datte juice (variety Zahdi). Technical bulletin, (1), 81, 1 p.

[23] BOUGEOIS C. M. et LARPENT P., 1989.
Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologie de la
sécurité et de la qualité alimentaire. Ed. Lavoisier, T.

1, Paris: 52-63.

[24] SASSON A., 1986. Nourrir demain les hommes. Ed.
UNESCO, Pays Bas, 765 p.