

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
14 décembre 2006 (14.12.2006)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2006/131643 A2

(51) Classification internationale des brevets :
A23K 1/00 (2006.01) **C12P 21/00** (2006.01)
C12N 1/16 (2006.01) **A23K 1/12** (2006.01)
C12N 1/22 (2006.01) **A23K 1/06** (2006.01)
C12P 7/10 (2006.01) **C02F 3/34** (2006.01)

Pierre [FR/FR]; 44, Traverse de la Seigneurie, F-13009
Marseille (FR).

(74) Mandataire : **GROSSET-FOURNIER, Chantal,
Catherine**; Grosset-Fournier & Demachy S.A.R.L., 54,
rue Saint Lazare, F-75009 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2006/001283

(81) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible*) : AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY,
MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international : 6 juin 2006 (06.06.2006)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
05/05762 7 juin 2005 (07.06.2005) FR

(84) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) :
INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPEMENT (I.R.D.) [FR/FR]; 213, rue La Fayette,
F-75480 Paris Cedex 10 (FR). **UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (U.A.M.I.)** [MX/MX];
Unidad Iztapalapa, Av. Michoacan y la Purisima, Col
Vicentina, D.F. Apdo. Postal 55-532., MX-09000, Mexico
(MX).

Publiée :

— *sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport*

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) :
DOMENECH, Fidel [CU/CU]; Avenida 164#329, Zona
1, Alamar, Ciuda Habana, Cuba (CU). **REVAH-MOISSEV, Sergio** [MX/MX]; Aguiar y Seijas 150, Col. Lomas
Virreyes, MX-11000 D.F. Mexico (MX). **CHRISTEN,**

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.*

(54) Title: METHOD FOR ENRICHING LIGNOCELLULOSE RESIDUES WITH YEAST PROTEIN

(54) Titre : PROCÉDÉ D'ENRICHISSEMENT DE RÉSIDUS LIGNOCELLULOSIQUES EN PROTÉINES DE LEVURE

(57) Abstract: The invention relates to the use of sugar cane molasses and distillery slop for carrying out a method for enriching lignocellulose residue, especially bagasse or straw, with yeast protein. The invention also relates to said lignocellulose residue enrichment method, and to the product thus obtained.

(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation de mélasse de canne à sucre et de vinasse de distillerie, pour la mise en œuvre d'un procédé d'enrichissement de résidu lignocellulosique, notamment de bagasse ou de paille, en protéines de levure. La présente invention concerne également ledit procédé d'enrichissement de résidu lignocellulosique, ainsi que le produit tel qu'obtenu.

WO 2006/131643 A2

PROCÉDÉ D'ENRICHISSEMENT DE RÉSIDUS LIGNOCELLULOSIQUES EN PROTÉINES DE LEVURE

5 La présente invention a pour objet un procédé d'enrichissement d'un résidu lignocellulosique, par exemple de bagasse de canne à sucre, en protéines de levure, comprenant notamment l'utilisation de mélasse de canne à sucre et de vinasse de distillerie. Elle a également pour objet la bagasse enrichie telle qu'obtenue.

10 Certains rejets des raffineries de sucre et des distilleries d'alcool sont nocifs pour l'environnement. En effet, l'industrie sucrière produit deux tonnes de bagasse de canne à sucre, qui est un résidu solide lignocellulosique fibreux issu du broyage de la plante, par tonne de sucre raffiné, ce qui représente à Cuba 10 à 20 millions de tonnes de bagasse par an. Un autre sous-produit polluant est la mélasse de canne à sucre qui est un
15 résidu liquide très riche en sucres et en certains sels minéraux. De plus, les distilleries d'alcool, souvent associées à la production de sucre de canne, émettent de grandes quantités de composés volatils plus ou moins nocifs pour l'environnement (principalement l'éthanol). Les distilleries d'alcool rejettent également dans l'environnement des vinasses très polluantes, mais riches en sels minéraux. Ainsi, toujours à Cuba, on estime que 1 600 tonnes d'éthanol, un composé dont l'émission est
20 soumise à contrôle, sont rejetées chaque année dans l'atmosphère.

Récemment, en réponse à une législation de plus en plus stricte, de nombreuses recherches ont été entreprises pour mettre au point des procédés biologiques de dépollution des effluents gazeux, simples, peu coûteux, et particulièrement bien adaptés au traitement de grandes quantités d'air faiblement contaminé (par exemple la
25 biofiltration).

Les procédés antérieurs de biofiltration de l'éthanol à partir de bagasse de canne à sucre comprennent l'utilisation d'un milieu minéral coûteux (33 % du coût total du procédé), le milieu minéral de Thomas et Dawson (voir composition dans l'article Christen P, Domenech F, Michelena G, Auria R, Revah S (2002) Biofiltration of
30 volatile ethanol using sugar cane bagasse inoculated with *Candida utilis*. Journal of Hazardous Materials, 89(2/3):253-265).

La présente invention a pour but de fournir un procédé permettant, d'une part, de valoriser la bagasse de canne à sucre, et, d'autre part, de limiter les importantes émissions dans l'atmosphère d'éthanol.

La présente invention a pour but de fournir un tel procédé correspondant à une méthode de traitement biologique efficace et peu coûteuse, qui trouve des applications à l'échelle industrielle, notamment dans les pays tropicaux producteurs de sucre de canne et/ou d'alcool.

La présente invention a pour but de fournir un procédé où la levure croît directement sur un support lignocellulosique (bagasse par exemple) pour produire un aliment pour le bétail. Elle n'a donc pas besoin d'être cultivée en milieu liquide dans un premier temps, séparée de ce milieu (centrifugation ou filtration), avant d'être mélangée à la bagasse.

La présente invention concerne l'utilisation de mélasse de canne à sucre et de vinasse de distillerie, pour la mise en œuvre d'un procédé d'enrichissement de résidu lignocellulosique, notamment bagasse ou de paille, en protéines de levure.

L'expression "mélasse de canne à sucre" désigne un résidu liquide très riche en sucres et en certains sels minéraux (Biart, Serrano et Conde, 1982, Ed. ICIDCA, La Havane, Cuba, "Estudio de las mieles de la caña de azúcar").

Dans le cadre de la présente invention, la mélasse de canne à sucre est utilisée comme milieu de culture pour préparer de l'inoculum actif à partir d'une souche de levure fourragère.

La vinasse de distillerie est telle que décrite dans l'article de Obaya, Valdes et Ramos (1994, *Acta Biotechnol.*, 14(2), 193-198) ou dans la référence "Manual de los derivados de la Caña de Azúcar", 3ra edición, Ciudad Habana, ICIDCA, 2000, chapitre 6.1, Editeur : Luis Galvez Taupier.

La vinasse de distillerie est un effluent polluant acide, riche en sels minéraux couramment rejeté dans les cours d'eau. Dans le cadre de la présente invention, la vinasse est utilisée comme source de sels minéraux.

Le résidu lignocellulosique est un résidu solide, issu du broyage de plantes. Comme exemple de résidu lignocellulosique, on peut citer la paille, qui désigne de manière générale une tige coupée de certaines plantes, le foin, la sciure ou les cossettes de betterave à sucre.

La bagasse est telle que décrite dans la référence : "Manual de los derivados de la Caña de Azúcar", 3ra edición, Ciudad Habana, ICIDCA, 2000, chapitre 2.2, Editeur : Luis Galvez Taupier.

Dans le cadre de la présente invention, la bagasse, qui est un sous-produit de l'industrie sucrière, est utilisée comme support solide pour le procédé.

Le procédé d'enrichissement permet d'obtenir de la bagasse enrichie en protéines de levure et contenant notamment au moins environ 8% de protéines par rapport au poids sec total de la bagasse.

Selon un mode de réalisation avantageux, l'utilisation selon l'invention est caractérisée en ce que le procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure comprend une étape de préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis* avec de la mélasse de canne à sucre.

Par "souche de levure fourragère", on désigne une levure riche en protéines à haute valeur nutritionnelle, telle que décrite dans la référence "Manual de los derivados de la Caña de Azúcar", 3ra edición, Ciudad Habana, ICIDCA, 2000, chapitre 4.8, Editeur : Luis Galvez Taupier. Parmi les micro-organismes "fourragers", on peut également citer certains champignons filamenteux (ou microscopiques) de type *Aspergillus*, ou la levure *Saccharomyces cerevisiae* (levure de boulangerie).

La présente invention concerne également l'utilisation telle que définie ci-dessus, caractérisée en ce que le procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure comprend une étape de mise en culture de l'inoculum actif tel que défini ci-dessus, avec de la vinasse de distillerie sur de la bagasse de canne à sucre.

La présente invention concerne également un procédé d'enrichissement de résidu lignocellulosique, notamment de bagasse, en protéines de levure, comprenant les étapes suivantes :

- la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre et
- l'ajout en continu au résidu lignocellulosique, notamment à la bagasse de canne à sucre, qui a été mis(e) en présence dudit inoculum actif avec de la vinasse de distillerie, d'éthanol, notamment gazeux, ou de vapeurs d'éthanol, comme source de carbone, permettant la consommation de l'éthanol par la levure susmentionnée et la production de résidu lignocellulosique, notamment de bagasse, enrichi(e) en protéines de levure.

Selon un mode de réalisation préféré, la présente invention comprend l'utilisation d'une souche de *Candida utilis*, aussi appelée *Torula utilis* ("Manual de los derivados de la Caña de Azúcar", 3ra edición, Ciudad Habana, ICIDCA, 2000, chapitre 4.9, Editeur : Luis Galvez Taupier).

Selon le procédé de l'invention, l'inoculum actif forme avec la vinasse de distillerie un mélange liquide, qui est ensuite mélangé à la bagasse qui sert de support solide.

Le procédé de l'invention est un procédé aérobique (qui nécessite la présence d'oxygène).

La présente invention concerne également un procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure, comprenant les étapes suivantes :

- la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,
- la mise en culture dudit inoculum actif avec de la vinasse de distillerie sur de la bagasse de canne à sucre et
- l'ajout en continu à la bagasse de canne à sucre, d'éthanol comme source de carbone, permettant la consommation de l'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

De préférence, l'éthanol ajouté en continu est en phase gazeuse. Ainsi, le procédé de l'invention permet d'éliminer l'éthanol d'une atmosphère polluée par celui-ci.

L'originalité du procédé de l'invention repose sur l'utilisation de bagasse de canne à sucre, qui est un sous-produit de l'industrie sucrière, de vinasse de distillerie qui est un effluent polluant, généralement rejeté dans un cours d'eau, riche en sels minéraux et de vapeurs d'éthanol issues des pertes par évaporation lors de la fermentation alcoolique, pour obtenir un aliment pour le bétail, enrichi en protéines.

En effet, la bagasse est parfois utilisée comme aliment pour le bétail, à condition d'être complétée en protéines qui peuvent être d'origine végétale (soja) ou microbienne (levures). Ainsi, le procédé de l'invention permet de produire une bagasse enrichie en protéines à partir d'un inoculum actif. En effet, le plus courant dans l'art antérieur est de produire la levure en milieu liquide, de la séparer du milieu par centrifugation et ensuite de la mélanger à la bagasse.

Pour ensemer la bagasse, il faut avantageusement au moins 5×10^6 levures par gramme de bagasse sèche, notamment pour raccourcir le temps de latence et avoir une croissance rapide et éviter une possible contamination microbienne.

Pour fixer les idées, le taux de multiplication de l'inoculum actif sur la bagasse dans les conditions décrites précédemment est d'environ 100 en environ 7 jours.

Selon un mode de réalisation avantageux, le procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure de la présente invention comprend les étapes suivantes :

- la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,
- le mélange de l'inoculum actif tel qu'obtenu à l'étape précédente avec de la vinasse de distillerie,
- la mise en présence du mélange tel qu'obtenu à l'étape précédente sur de la bagasse de canne à sucre et
- l'ajout en continu à la bagasse de canne à sucre, d'éthanol comme source de carbone, permettant la consommation de l'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

Cette étape de mélange des liquides (vinasse et inoculum actif) en présence d'un solide (bagasse) permet d'homogénéiser plus facilement les liquides et la bagasse.

Selon un mode de réalisation avantageux, le procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure de l'invention comprend les étapes suivantes :

- la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,
- le remplissage d'un réacteur avec de la bagasse de canne à sucre, de l'inoculum actif tel qu'obtenu à l'étape précédente et de la vinasse de distillerie et
- l'alimentation en continu dudit réacteur rempli selon l'étape précédente, avec des vapeurs d'éthanol, permettant la consommation desdites vapeurs d'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

Selon un mode particulier de réalisation, la bagasse est placée dans des sacs en fibre synthétique, pouvant contenir entre 3 et 17 kilogrammes de bagasse humide (correspondant au milieu initial) d'un maillage suffisant pour laisser passer et diffuser les gaz et assez serré cependant pour contenir la bagasse et éviter qu'elle s'éparpille. Ceci permet de faciliter le maniement de la bagasse humide au moment de la placer dans le réacteur et également de faciliter le maniement du produit fini directement utilisable pour le bétail.

La présente invention concerne également un procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

- la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,

– le remplissage d'un réacteur avec de la bagasse de canne à sucre et de l'inoculum actif tel qu'obtenu à l'étape précédente, mis en culture avec de la vinasse de distillerie, et

– l'alimentation en continu dudit réacteur rempli selon l'étape précédente, avec des vapeurs d'éthanol, permettant la consommation desdites vapeurs d'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

La présente invention concerne également un procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

– la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,

– le mélange de l'inoculum actif tel qu'obtenu à l'étape précédente avec de la vinasse de distillerie,

– le remplissage d'un réacteur avec le mélange tel qu'obtenu à l'étape précédente et de la bagasse de canne à sucre, et

– l'alimentation en continu dudit réacteur rempli selon l'étape précédente, avec des vapeurs d'éthanol, permettant la consommation desdites vapeurs d'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

Dans le procédé de l'invention, il n'est pas nécessaire de réguler le pH du milieu. Au contraire, l'acidification observée (jusqu'à un pH de 2,5) permet de limiter la contamination bactérienne.

Il n'est pas non plus nécessaire de réguler la température. En effet, une partie de l'excès de chaleur métabolique est éliminée grâce à la recirculation du milieu liquide, celle-ci ayant pour but premier d'éviter le séchage du milieu. Une autre partie de la chaleur métabolique est éliminée avec le courant gazeux alimentant le réacteur.

Selon un mode de réalisation avantageux, dans le procédé de l'invention, la bagasse de canne à sucre est de la bagasse fraîche broyée, dont les particules ont un diamètre compris d'environ 0,1 à environ 5 mm, et de préférence compris d'environ 0,54 mm à environ 3 mm.

Les particules utilisées sont petites afin de disposer d'une aire volumique spécifique la plus grande possible. Cependant, si on travaille avec des particules encore plus petites, la poudre (bagasse) sera très compacte, ce qui risque d'entraîner des problèmes de diffusion des gaz (oxygène et éthanol) et de la vinasse, à travers le support.

Un procédé avantageux selon la présente invention est caractérisé en ce que la mélasse de canne à sucre utilisée dans l'étape de préparation de l'inoculum est complétée en azote, et notamment par du sulfate d'ammonium et du phosphate d'ammonium.

5 L'utilisation de ces deux sels d'azote permet d'augmenter la quantité de levure produite. En effet, lorsqu'on n'utilise pas de compléments, la mélasse n'est pas assez riche et la croissance de la levure est moindre.

Selon la présente invention, l'inoculum est produit à partir de mélasse de canne à sucre, qui est un sous-produit de l'extraction du sucre. Or, dans les procédés antérieurs
10 déjà connus, le milieu de culture utilisé est, par exemple, une solution de glucose et un extrait de levure, qui sont des ingrédients plus coûteux.

La présente invention concerne également un procédé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que la souche de levure est incubée en présence d'environ 22 à environ 82 g.L⁻¹, notamment d'environ 42 à environ 62 g.L⁻¹, et de préférence environ 52 g.L⁻¹,
15 de mélasse, d'environ 3 à environ 8 g.L⁻¹, notamment d'environ 4 à environ 7 g.L⁻¹, et de préférence environ 5,5 g.L⁻¹, de sulfate d'ammonium, et d'environ 0,5 à environ 2 g.L⁻¹, et de préférence environ 1,2 g.L⁻¹, de phosphate d'ammonium.

Selon un mode de réalisation avantageux, la composition du milieu pour l'inoculum est la suivante (pour un litre) : 52 g de mélasse (dilution 1:17) ; 5,45 g de sulfate d'ammonium et 1,22 g de phosphate d'ammonium. Cette adaptation du milieu
20 de préparation de l'inoculum permet de produire un inoculum tout aussi actif, c'est-à-dire que la phase de latence est courte et que, par conséquent, la croissance de la levure commence très vite sur la bagasse, et légèrement plus dense (au moins $1,75 \times 10^8$ cellules/ml) que lorsqu'on utilise du glucose et de l'extrait de levure pour la préparation
25 de ce milieu.

Selon un mode de réalisation avantageux, le procédé de l'invention est caractérisé en ce que l'étape d'incubation de la souche de levure avec la mélasse de canne à sucre est effectuée à une température d'environ 25 à environ 35°C, et de préférence égale à environ 30°C, pendant une durée variant d'environ 15 heures à environ 22 heures, et de
30 préférence pendant une durée d'environ 18 heures.

La présente invention concerne également un procédé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que la vinasse de distillerie est préalablement enrichie en sels d'azote et en sels de magnésium, ladite vinasse étant de préférence préalablement enrichie en

sulfate d'ammonium à raison d'environ 73 g.L⁻¹, en phosphate d'ammonium à raison d'environ 22 g.L⁻¹ et en sulfate de magnésium à raison d'environ 7 g.L⁻¹.

Le fait d'utiliser la vinasse enrichie en sulfate d'ammonium, en sulfate de magnésium et en phosphate d'ammonium permet une croissance plus importante de la levure, ce qui entraîne une augmentation de la capacité d'élimination des vapeurs d'éthanol.

Un procédé avantageux selon la présente invention est caractérisé en ce que la souche de levure est additionnée en eau, afin d'obtenir un taux d'humidité d'environ 60 à environ 75%, et de préférence d'environ 65% par rapport au poids total de la bagasse humide.

Cette quantité d'eau permet de saturer la bagasse en eau, ce qui favorise la croissance de la levure.

Selon un mode de réalisation avantageux, dans le procédé de la présente invention, le réacteur est alimenté par l'éthanol à raison d'environ 100 g.h⁻¹.m⁻³ de réacteur à environ 200 g.h⁻¹.m⁻³ de réacteur, et de préférence à raison d'environ 150 à environ 200 g.h⁻¹.m⁻³ de réacteur.

Une des particularités du procédé de l'invention repose sur le fait qu'il est important de ne pas dépasser une concentration en éthanol de 10 g.m⁻³ dans le courant gazeux. De préférence, la concentration en éthanol est comprise de 6 à 8 g.m⁻³ d'air. Cette gamme de concentration en éthanol dans l'air alimentant le réacteur doit limiter les phénomènes d'inhibition du métabolisme de la levure et la production de métabolites volatils intermédiaires pouvant être toxiques (acétaldéhyde).

La présente invention concerne également un procédé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape d'alimentation du réacteur en éthanol est effectuée en continu notamment pendant environ 7 jours à température ambiante.

Selon un mode de réalisation avantageux, dans le procédé selon la présente invention, le réacteur peut être alimenté en éthanol en flux descendant et/ou en flux ascendant.

De façon avantageuse, le réacteur est alimenté en éthanol en flux descendant.

En effet, lorsqu'on alimente le réacteur en flux ascendant, on peut rencontrer le problème suivant : une forte condensation de la vapeur d'eau près de la sortie du réacteur (partie supérieure), ce qui entraîne une perte de charge et favorise la contamination microbienne.

Lorsqu'on alimente le réacteur en flux descendant, les problèmes de condensation dans la partie haute du réacteur disparaissent car l'eau qui aurait pu s'accumuler à la base du réacteur est éliminée naturellement par gravité.

Il est également possible d'utiliser en alternance le flux descendant et le flux ascendant, ce qui permet d'homogénéiser la croissance de la levure sur toute la hauteur du réacteur.

La présente invention concerne également un procédé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que la partie supérieure du réacteur est aspergée par une solution de vinasse telle que définie ci-dessus, préalablement enrichie en sels d'azote et en sels de magnésium, tels que définis précédemment.

Selon un mode de réalisation avantageux, la partie supérieure du réacteur est aspergée par la vinasse en excès qui est drainée dans un cône situé à la base du réacteur, par une pompe activée pendant 5 minutes toutes les heures. Ce liquide qui recircule correspond à la vinasse initialement ajoutée à la bagasse. La pompe de recirculation utilisée a un débit compris de 0,1 à 0,4 ml/minute, et de préférence égal à 0,25 ml/minute.

Selon un mode de réalisation avantageux, pour remédier aux problèmes d'élévation de la température et du subséquent séchage, dans le système d'humidification du milieu, la tour d'humidification de l'air alimentant le réacteur est remplacée par une humidification directe du milieu par aspersion discontinue par le haut du réacteur. Ceci a pour effet de diminuer les phénomènes de séchage (humidification plus efficace) et de contrôler l'élévation de la température grâce à l'énergie consommée lors de l'évaporation de cette eau. De plus, il s'agit d'une méthode beaucoup plus économique que l'humidification préalable de l'air.

Ainsi, l'humidification par recirculation de la phase liquide, associée à l'utilisation de vinasse complétée, comme décrit ci-dessus, permet une croissance plus importante de la levure et une augmentation de la capacité d'élimination de l'éthanol.

La présente invention concerne également un procédé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que de l'eau est rajoutée ponctuellement au cours du procédé, notamment en une quantité comprise de 50 mL à 200 mL par litre de réacteur et par jour, ce qui correspond à une quantité comprise de 1 à 2 litres pour un volume de milieu de culture d'environ 16 litres.

Selon un mode de réalisation préféré, le procédé de l'invention est caractérisé en ce qu'il comprend une étape finale supplémentaire consistant à sécher avec de l'air sec le produit final correspondant à la bagasse enrichie en protéines de levure et à récupérer le produit ainsi séché, ceci afin de faciliter sa stabilité, sa conservation et son éventuel transport.

Un procédé avantageux est un procédé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que la bagasse enrichie en protéines de levure présente un taux en protéines d'environ 5 à environ 17%, et de préférence d'environ 17% par rapport au poids total de bagasse sèche.

La présente invention concerne également un produit tel qu'obtenu selon le procédé tel que défini ci-dessus.

Le procédé de la présente invention peut notamment être utilisé notamment dans le domaine environnemental, pour permettre, d'une part, la réduction de la pollution des cours d'eaux où est déversée la vinasse riche en sels minéraux et au pH acide (de l'ordre de 4)(Delbecq D, Le sucre, une douceur amère pour l'environnement, Libération, 22 Novembre 2004), et, d'autre part, pour permettre la réduction de la pollution atmosphérique par les vapeurs d'éthanol issues des cuves de distillation (cette molécule volatile quoique considérée comme peu toxique fait cependant l'objet d'une législation en Europe : un individu ne doit pas être exposé pendant plus de 8 h à une concentration de 1000 ppm dans l'air (Cioci F, Lavecchia R, Ferranti MM (1997) High-performance microbial removal of ethanol from contaminated air. Biotech. Techniques, 11:893-898)).

Le procédé de la présente invention peut également être utilisé dans le domaine alimentaire étant donné que le produit fini constitue un aliment pour le bétail (ruminants) riche en fibre et enrichi en protéines. Il est particulièrement intéressant dans des pays ayant un déficit en protéines de l'alimentation animale (Cuba, Inde) et/ou producteurs de canne à sucre (Brésil, Inde, Cuba, Mexique, etc...).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

La présente invention résulte d'expériences consistant à tester les capacités de plusieurs souches de la levure *Candida utilis* pour :

5 . éliminer l'éthanol (émis par les distilleries d'alcool, brasseries ou les boulangeries industrielles) et le transformer en CO₂ et H₂O (oxydation totale) grâce à un procédé de biofiltration,

. et/ou utiliser cet éthanol afin de produire de la biomasse (protéines unicellulaires) pour l'alimentation animale.

10 Les expériences effectuées dans le cadre de la présente invention ont été effectuées à l'échelle pilote. Plus exactement, elles ont été effectuées avec un réacteur pilote de 20 litres.

15 Lors des premiers essais, la CE (capacité d'élimination) de l'éthanol moyenne observée est de 120 g/h.m³ d'éthanol (période de 12 jours) et au 16^{ème} jour, la biomasse produite est de l'ordre de 129 g/ kg de bagasse. La CE des vapeurs d'éthanol est calculée selon l'équation suivante :

$$CE = \frac{(C_e - C_s) * F}{V} \quad (1)$$

20 avec CE : capacité d'élimination (g/h.m³)

Ce et Cs : concentration d'éthanol en entrée et sortie du réacteur (g/m³)

F : aération (m³/h)

V : volume du réacteur (m³)

25 Selon un mode de réalisation préféré, le sens de l'alimentation en air+éthanol a été inversé (flux descendant). Les problèmes de condensation dans la partie haute du réacteur ont disparu, et à la base du réacteur, la phase liquide (eau et/ou vinasse) qui aurait pu s'accumuler est éliminée naturellement par gravité.

30 Selon un autre mode de réalisation préféré, la tour d'humidification de l'air alimentant le réacteur est remplacée par une humidification directe du milieu par aspersion discontinue par le haut du réacteur. Ceci a pour effet de diminuer les phénomènes de séchage (humidification plus efficace) et de contrôler l'élévation de la température grâce à l'énergie consommée lors de l'évaporation de cette eau. De plus, c'est une méthode d'humidification du milieu beaucoup plus économique que

l'humidification de l'air qui nécessite une tour d'un volume équivalent à celui du réacteur.

Par ailleurs, étant donné le coût du milieu minéral de Thomas et Dawson (Christen P, Domenech F, Michelena G, Auria R, Revah S (2002) Biofiltration of volatile ethanol using sugar cane bagasse inoculated with *Candida utilis*. Journal of Hazardous Materials, 89(2/3):253-265), ce milieu minéral a été remplacé par de la vinasse de distillerie produite lors de la fermentation alcoolique utilisant la mélasse de canne à sucre comme substrat. La vinasse est un effluent acide et riche en sels minéraux couramment rejeté dans les cours d'eaux, polluant ceux-ci. Celle-ci est utilisée à une proportion de 1,04 L par kg de bagasse et dûment complétée par des sources bon marché d'azote (sulfate d'ammonium, 73 g/l et phosphate d'ammonium, 22 g/l) et de magnésium (sulfate de magnésium, 7 g/l).

Ces deux modifications (humidification par recirculation de la phase liquide et utilisation de la vinasse complétée) ont permis une croissance plus importante de la levure dans le module d'entrée (356 g/kg de bagasse), ainsi qu'une augmentation de la CE de l'éthanol (élimination de 99,8% d'une charge de 186 g/h.m³).

Selon un mode de réalisation préféré, on a utilisé un flux d'aération plus important sans modifier la charge (ce qui implique de diminuer la concentration d'éthanol en entrée à des valeurs de l'ordre de 8 g/m³). Cette concentration relativement plus faible en éthanol dans l'air alimentant le réacteur doit limiter les phénomènes d'inhibition du métabolisme de la levure et la production de métabolites volatils intermédiaires pouvant être toxiques (acétaldéhyde). Ce mode de réalisation permet ainsi d'éviter une grande hétérogénéité longitudinale de la concentration en biomasse dans le réacteur, avec une croissance de la levure beaucoup plus importante dans le module d'entrée de l'éthanol (356 g/kg de bagasse) que dans le module de sortie (76 g/kg de bagasse), qui a pour conséquence un fonctionnement partiel du réacteur en termes de CE, avec plus de 85% de l'éthanol éliminé dans le module d'entrée et seulement 2% dans le module de sortie (observé lors du troisième essai de ce réacteur pilote).

L'augmentation du flux d'air a permis une meilleure répartition de la consommation de l'éthanol (57,5 % dans le module d'entrée, et 8,9% en sortie) et de la biomasse produite (208 et 81 g/kg de bagasse dans les modules d'entrée et de sortie respectivement). La CE moyenne du système est de 161 g/h.m³.

Selon un autre mode de réalisation préféré, le réacteur est alimenté de façon alternée en air+éthanol : un jour sur deux par le haut et un jour sur deux par le bas.

Ainsi, ce mode de réalisation permet d'améliorer encore l'homogénéité de la croissance dans le réacteur.

Etant donné les grands volumes d'inoculum nécessaires pour ensemen-
5 cer le milieu (0,57 l/kg de matière sèche), il a été décidé de produire l'inoculum à partir de
mélasse de canne à sucre, sous-produit de l'extraction du sucre, au lieu de la solution de
glucose et d'extrait de levure utilisée à l'échelle laboratoire, beaucoup plus coûteuse. La
composition du milieu pour l'inoculum est la suivante (par litre) : mélasse, 52 g
(dilution 1:17) ; sulfate d'ammonium, 5,45 g ; phosphate d'ammonium, 1,22 g. Ce
10 changement a permis de produire un inoculum tout aussi actif et plus dense que le
précédent ($1,75 \times 10^8$ cellules/ml contre $1,53 \times 10^8$ cellules/ml), sur une durée identique
(22h) et à un coût moindre.

EXEMPLE

Etapes essentielles du procédé

15 1. préparation de la bagasse : on prend de la bagasse de préférence fraîche que
l'on broie pour obtenir des particules inférieures à 20 mm ;

2. production de l'inoculum en milieu liquide à partir de la mélasse dûment
complétée en sulfate d'ammonium et phosphate d'ammonium (incubation entre 15 et 20
h), pour obtenir de l'inoculum actif au bout de 14 heures (environ de 14 à 18 heures) ;

20 3. préparation du milieu de culture "solide" sur la bagasse en mélangeant
l'inoculum actif, la vinasse préalablement enrichie en sels d'azote et de magnésium et la
quantité d'eau nécessaire pour obtenir une humidité de 65% ;

4. remplissage du réacteur et alimentation en vapeurs d'éthanol par flux ascendant
ou descendant ; et

25 5. recirculation périodique de la phase liquide (5 min chaque heure).

Produits de départ

A l'exception de la levure, ils peuvent tous être considérés à divers degrés comme
des exemples de sous produits polluants de l'industrie agro-alimentaire : distilleries
30 (vinasses et vapeurs d'éthanol), raffineries de sucre (bagasse de canne).

La mélasse de canne à sucre peut être utilisée comme milieu de culture pour la
production de l'inoculum de départ.

La levure employée peut être *Candida utilis*.

Produit final

Bagasse de canne enrichie en protéines de levure pour l'alimentation pour le bétail
(teneur minimale : 8% de protéines)

Proportions de chaque constituant

Sur la base d'un kg de bagasse (sèche), on utilise :

Vinasse	1,04 l
Sulfate d'ammonium	76 g
Phosphate d'ammonium	23 g
Sulfate de magnésium	7,3 g
Vapeurs d'éthanol	la charge ne doit pas dépasser 200 g/h.m ³
Mélasse (pour la préparation de l'inoculum)	32,4 g

Description détaillée :

Un bio-réacteur de 20 litres, composé de 3 modules en plexiglas a été monté (Aizpuru A., Dunat D., Christen P., Auria R., Garcia-Peña I., Revah S. (2005) Fungal biofiltration of toluene on ceramic rings. *Journal of Environmental Engineering*, 131: 396-402).

Volume utile du réacteur : 19,83 L ; composé de 3 modules (volume de chacun : 6,61 L ; diamètre : 18 cm ; hauteur : 26 cm)

L'air est alimenté grâce à une pompe et le flux d'air est régulé par un débitmètre équipé d'une valve à pointeau. Il en est de même pour l'air qui va buller dans un récipient contenant l'éthanol (liquide). L'ajustement de ce flux permet de fixer avec précision la concentration en éthanol dans l'air entrant dans le réacteur.

Chaque module est équipé d'un port de prélèvement d'échantillons du support (bagasse) au milieu de chaque module afin de suivre l'évolution du pH, de l'humidité et de la croissance de la levure. Celle ci est déterminée par comptage des cellules au microscope et par la détermination de protéine totale par la méthode de Barnstein (Winton A.L. et Winton K.B., 1983, *Metodos químicos generales: Proteínas. Análisis de los Alimentos*. Editorial Pueblo y Educación, La Havane, Cuba). Chaque module est également équipé de ports d'échantillonnage de l'air (entrée et sortie) afin de déterminer les concentrations d'éthanol, de CO₂ et d'éventuels métabolites volatils (acétaldéhyde et acétate d'éthyle) dans l'air. Ceci permet de suivre le comportement du réacteur et à la fin de l'expérience de réaliser un bilan carbone.

Fonctionnement.

Le mélange air+éthanol est alimenté au réacteur en continu soit dans un seul sens (ascendant ou descendant) soit de façon alternée. De façon périodique, on asperge le haut du réacteur avec de l'eau et parfois (dans le cas où l'on observe une diminution de l'efficacité d'élimination de l'éthanol), une solution de vinasse diluée et complémentée en N et P peut être ajoutée. La levure consomme l'éthanol et le transforme en biomasse - tant que n'apparaît pas une limitation de l'un des nutriments - et en CO₂. Le procédé ne nécessite ni régulation de température, ni régulation de pH.

Quand la croissance est terminée (au bout d'une semaine environ), on passe de l'air sec dans le réacteur afin de sécher le produit et améliorer son temps de conservation.

Un des avantages de ce procédé est que la levure produit des acides (en particulier l'acide acétique) qui abaissent le pH du milieu à des valeurs de 2,5 à 3, ce qui limite fortement la contamination du milieu par d'autres micro-organismes (bactéries en particulier).

Résultats

Plusieurs expériences ont été effectuées et les résultats obtenus sont les suivants :

Conditions opératoires

Humidité initiale de la bagasse	65 %
Taux d'inoculation	$1,78 \times 10^6$ levures/g bagasse
pH initial	6

Le milieu de culture a la composition suivante :

bagasse sèche (1 kg),
vinasse (1,04 L),
solution minérale 1 (490 mL),
solution minérale 2 (49,2 mL),
inoculum (622 mL).

La solution minérale 1 a la composition suivante (pour 1 L) : 155 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et 46,78 g de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

La solution minérale 2 a la composition suivante (pour 100 mL) : 14,88 g de MgSO_4

5

La bagasse est lavée, séchée et tamisée (diamètre de particules entre 0,54 et 3 mm) et stérilisée 1 heure à 121°C. Elle est ensuite mélangée de façon non stérile aux sels, vinasse et inoculum et introduite dans le réacteur.

Le réacteur est ensuite alimenté en éthanol (courant descendant) avec une charge d'environ 200 g/h.m³ pendant 10 jours puis de 150 g/h.m³ les 6 jours suivants. Pour cela, le flux d'air alimenté a varié de 480 à 1200 L/h et la concentration en éthanol dans l'air a varié de 2 à 9 g/m³.

L'efficacité d'élimination (EE) est de 100% pendant les 6 premiers jours puis a chuté jusqu'à 60% le 7^{ème} jour. Afin de rétablir cette EE, on a rajouté 1 L de solution minérale contenant 59,3 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 17,9 g de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ et 5,66 g de MgSO_4 . On a également rajouté 1 L d'eau stérile par jour au réacteur afin de compenser l'eau perdue par évaporation et ainsi éviter le séchage du milieu.

Au long de l'expérience, on a obtenu une capacité d'élimination (CE) variant de 130 à 220 g/h.m³. La biomasse maximale a été atteinte au bout de 8 jours avec les teneurs en protéines suivantes : 13,7 ; 5,8 et 5,1 g pour 100 g de bagasse sèche, dans les modules d'entrée, du milieu et de sortie, respectivement, soit une teneur moyenne de 8,2 g pour 100 g de bagasse sèche dans l'ensemble du réacteur. Le pH final est de 2,6 ; 2,5 et 2,3 dans les modules d'entrée, du milieu et de sortie, respectivement.

25 *Production de l'inoculum :*

La souche de levure (une öse) est introduite dans un Erlenmeyer contenant la mélasse (52 g/l) et complétée en sulfate d'ammonium (5,45 g/l) et phosphate d'ammonium (1,22 g/l). Le récipient est ensuite placé sur un incubateur à agitation orbitale (200 tpm) à 30°C. Taux d'inoculation : $1,78 \times 10^6$ levures/g bagasse).

30

REVENDICATIONS

5 1. Utilisation de mélasse de canne à sucre et de vinasse de distillerie, pour la mise en œuvre d'un procédé d'enrichissement de résidu lignocellulosique, notamment de bagasse ou de paille, en protéines de levure.

10 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure comprend une étape de préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis* avec de la mélasse de canne à sucre.

15 3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que le procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure comprend une étape de mise en culture de l'inoculum actif tel que défini dans la revendication 2, avec de la vinasse de distillerie sur de la bagasse de canne à sucre.

20 4. Procédé d'enrichissement de résidu lignocellulosique, notamment de bagasse en protéines de levure, comprenant les étapes suivantes :

– la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre et

25 – l'ajout en continu au résidu lignocellulosique, qui a été mis en présence dudit inoculum actif avec de la vinasse de distillerie, d'éthanol, notamment gazeux, comme source de carbone, permettant la consommation de l'éthanol par la levure susmentionnée et la production de résidu lignocellulosique enrichi en protéines de levure.

30 5. Procédé d'enrichissement de résidu lignocellulosique, notamment de bagasse en protéines de levure, comprenant les étapes suivantes :

– la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,

– la mise en culture dudit inoculum actif avec de la vinasse de distillerie sur le résidu lignocellulosique, notamment sur de la bagasse de canne à sucre et

– l'ajout en continu au résidu lignocellulosique, notamment à la bagasse de canne à sucre, d'éthanol comme source de carbone, permettant la consommation de l'éthanol par la levure susmentionnée et la production de résidu lignocellulosique enrichi en protéines de levure, notamment de bagasse enrichie en protéines de levure.

5

6. Procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure selon la revendication 4, comprenant les étapes suivantes :

– la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,

10

– le mélange de l'inoculum actif tel qu'obtenu à l'étape précédente avec de la vinasse de distillerie,

– la mise en présence du mélange tel qu'obtenu à l'étape précédente sur de la bagasse de canne à sucre et

15

– l'ajout en continu à la bagasse de canne à sucre, d'éthanol, notamment gazeux, comme source de carbone, permettant la consommation de l'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

7. Procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure selon la revendication 4, comprenant les étapes suivantes :

20

– la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,

– le remplissage d'un réacteur avec de la bagasse de canne à sucre, de l'inoculum actif tel qu'obtenu à l'étape précédente et de la vinasse de distillerie et

25

– l'alimentation en continu dudit réacteur rempli selon l'étape précédente, avec des vapeurs d'éthanol, permettant la consommation desdites vapeurs d'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

8. Procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure selon la revendication 7, comprenant les étapes suivantes :

30

– la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,

– le remplissage d'un réacteur avec de la bagasse de canne à sucre et de l'inoculum actif tel qu'obtenu à l'étape précédente, mis en culture avec de la vinasse de distillerie, et

– l'alimentation en continu dudit réacteur rempli selon l'étape précédente, avec des vapeurs d'éthanol, permettant la consommation desdites vapeurs d'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

5 **9.** Procédé d'enrichissement de bagasse en protéines de levure selon la revendication 7, comprenant les étapes suivantes :

– la préparation d'un inoculum actif par incubation d'au moins une souche de levure fourragère, notamment *Candida utilis*, avec de la mélasse de canne à sucre,

10 – le mélange de l'inoculum actif tel qu'obtenu à l'étape précédente avec de la vinasse de distillerie,

– le remplissage d'un réacteur avec le mélange tel qu'obtenu à l'étape précédente et de la bagasse de canne à sucre, et

15 – l'alimentation en continu dudit réacteur rempli selon l'étape précédente, avec des vapeurs d'éthanol, permettant la consommation desdites vapeurs d'éthanol par la levure susmentionnée et la production de bagasse enrichie en protéines de levure.

20 **10.** Procédé selon l'une des revendications 4 à 9, caractérisé en ce que la bagasse de canne à sucre est de la bagasse fraîche broyée, dont les particules ont un diamètre compris d'environ 0,1 à environ 5 mm, et de préférence compris d'environ 0,54 mm à environ 3 mm.

25 **11.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 10, caractérisé en ce que la mélasse de canne à sucre utilisée dans l'étape de préparation de l'inoculum est complétée en azote, et notamment par du sulfate d'ammonium et du phosphate d'ammonium.

30 **12.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 11, caractérisé en ce que la souche de levure est incubée en présence d'environ 22 à environ 82 g.L⁻¹, et de préférence environ 52 g.L⁻¹, de mélasse, d'environ 3 à environ 8 g.L⁻¹, et de préférence environ 5,5 g.L⁻¹, de sulfate d'ammonium, et d'environ 0,5 à environ 2 g.L⁻¹, et de préférence environ 1,2 g.L⁻¹, de phosphate d'ammonium.

13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 12, caractérisé en ce que l'étape d'incubation de la souche de levure avec la mélasse de canne à sucre est

effectuée à une température d'environ 25 à environ 35°C, et de préférence égale à environ 30°C, pendant une durée variant d'environ 15 heures à environ 22 heures, et de préférence pendant une durée d'environ 18 heures.

5 **14.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 13, caractérisé en ce que la vinasse de distillerie est préalablement enrichie en sels d'azote, en sels de phosphore et en sels de magnésium, ladite vinasse étant de préférence préalablement enrichie en sulfate d'ammonium à raison d'environ 73 g.L⁻¹, en phosphate d'ammonium à raison d'environ 22 g.L⁻¹ et en sulfate de magnésium à raison d'environ 7 g.L⁻¹.

10 **15.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 14, caractérisé en ce que la souche de levure est additionnée en eau, afin d'obtenir un taux d'humidité d'environ 60 à environ 75%, et de préférence d'environ 65% par rapport au poids total de la bagasse humide.

15 **16.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 à 15, caractérisé en ce que le réacteur est alimenté par l'éthanol à raison d'environ 100 g.h⁻¹.m⁻³ de réacteur à environ 200 g.h⁻¹.m⁻³ de réacteur, et de préférence à raison d'environ 150 à environ 200 g.h⁻¹.m⁻³ de réacteur.

20 **17.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 à 16, caractérisé en ce que l'étape d'alimentation du réacteur en éthanol est effectuée en continu notamment pendant environ 7 jours à température ambiante.

25 **18.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 à 17, caractérisé en ce que le réacteur peut être alimenté en éthanol en flux descendant et/ou en flux ascendant.

30 **19.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 à 18, caractérisé en ce que la partie supérieure du réacteur est aspergée par une solution de vinasse complétée en azote et en phosphore, telle que définie dans la revendication 14.

20. Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 à 19, caractérisé en ce que de l'eau est rajoutée ponctuellement au cours du procédé, notamment en une quantité comprise de 50 mL à 200 mL par litre de réacteur et par jour.

5 21. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 20, caractérisé en ce qu'il comprend une étape finale supplémentaire consistant à sécher avec de l'air sec le produit final correspondant à la bagasse enrichie en protéines de levure et à récupérer le produit ainsi séché.

10 22. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 21, caractérisé en ce que la bagasse enrichie en protéines de levure présente un taux en protéines d'environ 5 à environ 17%, et de préférence d'environ 17% par rapport au poids total de bagasse sèche.

15 23. Produit tel qu'obtenu selon le procédé tel que défini dans l'une quelconque des revendications 4 à 22.