



Essai de production de l'acide polylactique (PLA) à partir de la mélasse de canne à sucre en vue d'élaborer les emballages bioplastiques

[Test to produce polylactic acid (PLA) from sugar cane molasses with a view to developing bioplastic packaging]

Lionel Mavula Damusa^{1,3}, Arsène Muabu Kayeye^{2,3}, Jeffrey Kamwiziku Mihala^{2,3}, Théodore Kashishi Kazadi^{2,3}, Taba Kalulu Muzele^{2,3} & Joséphine Ntumba Kankolongo^{2,3*}

¹Département de Raffinage et Pétrochimie, Faculté de Pétrole, Gaz et Energies renouvelables, Université de Kinshasa, Kinshasa, République Démocratique du Congo.

²Département de Chimie et Industrie, Faculté de Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, Kinshasa, République Démocratique du Congo

³Laboratoire de Chimie Organique et Energétique, Faculté de Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, Kinshasa, République Démocratique du Congo

Résumé

Ce travail consiste à l'élaboration d'un bioplastique de substitution aux plastiques non dégradables dans les emballages. L'objectif était de produire l'acide polylactique (PLA) à partir de la mélasse de canne à sucre avec le *Lactobacillus delbrueckii* localement produit. L'acide polylactique est un polymère biosourcé et biodégradable, il peut être plastifié. Les bactéries lactiques nécessaires à la synthèse ont été isolées et identifiées en *Lactobacillus delbrueckii* suite à leurs caractéristiques. La mélasse de la canne à sucre utilisée provenait de la sucrière de Kwilu-Ngongo avec une concentration de 410,9 g/L en sucre fermentescibles. 1L de mélasse diluée a été fermenté avec l'inoculum de *Lactobacillus delbrueckii* dans un rapport de 10/1. Cette fermentation a produit 98 g d'acide lactique après purification (63,6%). L'acide lactique a été polymérisé en acide polylactique (92%), en passant par le lactide (78,46%), par ouverture de cycle. Les colonies des *Lactobacillus delbrueckii* ont été caractérisées par la coloration de Gram, le test de catalase, la morphologie, l'aspect de la colonie et le mode de la fermentation. Le degré Brix, le pH, la densité et le taux de sucre fermentescible ont été déterminés sur la mélasse. Le polymère obtenu avait un comportement cassant sous chauffe et son mélange avec 5% de glycérol s'est plus faiblement gélifié qu'en présence de 10% de glycérol.

Mots clés : bioplastique, *Lactobacillus delbrueckii*, mélasse, acide polylactique, emballage

Abstract

This work involves the development of a bioplastic replacement for non-degradable plastics in packaging. The objective was to produce polylactic acid (PLA) from sugarcane molasses with locally produced *Lactobacillus delbrueckii*. Polylactic acid is a biosourced and biodegradable polymer, it can be plasticized. The lactic acid bacteria necessary for the synthesis were isolated and identified as *Lactobacillus delbrueckii* following their characteristics. The sugar cane molasses used came from the Kwilu-Ngongo sugar mill with a concentration of 410.9 g/L of fermentable sugar. 1L of diluted molasses was fermented with the inoculum of *Lactobacillus delbrueckii* in a ratio of 10/1. This fermentation produced 98 g of lactic acid after purification (63.6%). Lactic acid was polymerized to polylactic acid (92%), via lactide (78.46%), by ring opening. *Lactobacillus delbrueckii* colonies were characterized by Gram staining, catalase test, morphology, appearance of the colony and mode of fermentation. The Brix degree, pH, density and fermentable sugar level were determined on the molasses. The polymer obtained had a brittle behavior when heated and its mixture with 5% glycerol gelled more weakly than in the presence of 10% glycerol.

Key words: bioplastics, *Lactobacillus delbrueckii*, molasses, polylactic acid, packaging

*Auteur correspondant: Joséphine Ntumba Kankolongo, (josephine.ntumba@unikin.ac.cd). Tél.: (+243) 854 704 596

Reçu le 17/07/2024; Révisé le 13/08/2024 ; Accepté le 02/09/2024

DOI: <https://doi.org/10.59228/rcst.024.v3.i3.96>

Copyright: ©2024 Mavula. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License (CC-BY-NC-SA 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

1. Introduction

Depuis plusieurs décennies, le plastique s'est avéré être un matériau plus utilisé que les métaux, les papiers et les verres. Le plastique sous toutes ses formes est souple ou rigide, il est moins fragile que le verre, plus léger que le métal et n'est pas aussi soluble dans l'eau que le papier (Kassay, 2015).

En effet, les plastiques s'adaptent à toutes sortes de situations, aux formes multiples d'objets et de gadgets qui sont de plus en plus présents dans la vie quotidienne. Cependant, sa grande utilisation notamment dans l'emballage alimentaire, implique deux problèmes. D'une part, l'utilisation massive des emballages alimentaires en plastique génère beaucoup de déchets à cause du caractère d'usage unique qu'ont ces emballages. Dans la ville de Kinshasa par exemple, plus de 12 millions d'habitants qui y vivent utilisent très souvent des emballages plastiques pour les courses, les sachets d'eau, les bouteilles d'eau, les bouteilles des boissons non alcoolisées, etc. (Kassay, 2015 ; Simbu et al., 2022). Ceci génère beaucoup de déchets qui sont par la suite jetés dans les caniveaux et dans les cours d'eaux où ils s'accumulent parce qu'ils mettent plus de 100 ans pour se dégrader (Dussud & Ghiglione, 2021); entraînant des conséquences fâcheuses comme par exemple des inondations lorsque des grandes pluies s'abattent sur la ville (Mujinga et al., 2023). La figure 1 montre l'utilisation massive de plastique et la génération des déchets (a) ainsi que le bouchement des caniveaux (b) et le ruissèlement difficile des rivières (c).



Figure 1. (a) utilisation massive de plastique, (b) bouchage des caniveaux et (c) ruissèlement difficile des rivières

D'autre part, l'utilisation massive de plastique nécessite à ce qu'il y ait une source permanente et locale pour sa fabrication, alors qu'actuellement, la source incontestable de plastique est le pétrole qui est non-renouvelable, et qui peut tarir avec les besoins de plus en plus élevés suite à la croissance démographique galopante (Copinschi, 2014 ; Fuentes et al., 2022).

Face à cette double problématique, les plastiques biosourcés et biodégradables (bioplastiques) peuvent constituer la solution.

Les bioplastiques sont classés en trois familles : ceux de la première famille sont issus directement de la biomasse telle que l'amidon, la cellulose ; ceux d'origine bactérienne en l'occurrence les polyhydroxyalcanoates constituent la deuxième famille. Et la troisième famille contient ceux qui sont synthétisés à partir des monomères renouvelables notamment l'acide polylactique (PLA). Les bioplastiques de la première famille, malgré qu'ils soient les premiers matériaux plastiques produits, ont été vite remplacés par les plastiques pétrochimiques parce qu'ils ont présenté beaucoup de faiblesses pour être utilisés comme plastique, notamment leur affinité avec l'eau. Et les bioplastiques de la deuxième famille souffrent encore d'une technologie appropriée (Gélinas, 2013). D'où les recherches sont actuellement orientées vers la production des bioplastiques à partir de l'acide polylactique (troisième famille).

L'acide polylactique est synthétisé à partir des polymères naturels notamment l'amidon. Il a des propriétés plus améliorées que ces polymères, notamment la solubilité dans l'eau et les propriétés barrières, d'où il est de loin le bioplastique le plus produit actuellement dans le monde (Labonté, 2014 ; Ghadamyaria et al., 2018). Cependant, en RDC le marché des bioplastiques n'a pas encore vu le jour. Malgré plusieurs tentatives gouvernementales d'interdiction des emballages plastiques pour palier à la problématique de pollution plastique, aucune alternative n'a été proposée, mettant ainsi en difficulté l'applicabilité de ces mesures gouvernementales (Ntirumenyerwa, 2018).

Il est possible de produire de l'acide polylactique (PLA) en RDC afin de le substituer aux plastiques pétrochimiques couramment utilisés car la RDC possède une très grande biodiversité végétale susceptible de constituer une source inépuisable pour la production du PLA. Ce dernier est produit avec l'apport incontournable des bactéries lactiques qui sont rares sur le marché congolais mais sont présentes dans certaines substances notamment le Yaourt Nature. Pour se rassurer de la production de PLA en RDC, l'obtention des *Lactobacillus* est l'un des préalables.

Le présent travail poursuit l'objectif de produire l'acide polylactique (PLA) à partir de la mélasse de

canne à sucre avec le *Lactobacillus delbrueckii* localement produit.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Obtention et caractérisation de la mélasse

La mélasse de canne à sucre utilisée dans cette étude provient de la compagnie sucrière de Kwilu-Ngongo située dans la province du Kongo Central en République Démocratique du Congo (figure 2).



Figure 2. (a) Sucrerie de Kwilu-Ngongo (b) Mélasse de canne à sucre de Kwilu-Ngongo

La caractérisation de la mélasse a été réalisée via la détermination du degré Brix, de la teneur en saccharoses purs, du dosage des sucres réducteurs, du taux des sucres fermentescibles, du taux de sucres totaux et du pH suivant les méthodes d'analyses ICUMSA (International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis). La mélasse a été ensuite conservée à 4°C dans un réfrigérateur.

2.2. Méthodes

Les étapes pour l'obtention de l'acide polylactique (PLA) à partir de la mélasse de canne à sucre sont les suivantes : fermentation de la mélasse, purification de l'acide lactique, conversion de l'acide lactique en lactide, polymérisation de lactide en acide polylactique (Rama, 2008).

2.2.1. Production de l'acide lactique

a) Production de *Lactobacillus delbrueckii*

Dans cette étude, nous nous sommes proposés de produire nous-même les *Lactobacillus delbrueckii* en lieu et place d'utiliser les bactéries lactiques commerciales, rares sur le marché en RDC et dont l'importation influencerait le coût de production globale du PLA.

Selon la littérature, le yaourt nature est une niche de deux espèces de bactéries lactiques à savoir le *Lactobacillus delbrueckii* et le *Streptococcus thermophilus*. Le yaourt nature utilisé dans ce travail provient d'un super marché de la place. Le milieu de culture MRS, sélectif aux *Lactobacillus delbrueckii*, a été utilisé (Michaylova et al., 2007 ; Bouabellou & Bouzzenir, 2018).

En s'inspirant de Ghozlane (2012) la production s'est faite en trois étapes ci-dessous :

1° Etape 1. Préparation des milieux de culture :

Les bactéries sont ensemencées dans des milieux réunissant les propriétés requises en ce qui concerne notamment le pH (autour de 5), les nutriments, l'inhibiteur des espèces gênantes, pour leur multiplication rapide. Les milieux MRS gélosé et l'eau peptonée ont été sélectionnés à cette fin.

69,14 g de MRS ont été ajoutés dans 1L d'eau distillée. Après dissolution complète du mélange à chaud (autour de 80°C), le milieu a été stérilisé à 121°C pendant 20 minutes. Le milieu ainsi préparé a été coulé dans les boîtes de pétri et laissé refroidir à température ambiante jusqu'à sa solidification.

L'eau peptonée a été préparée selon le protocole proposé par le laboratoire de microbiologie de la manière suivante : 16,3 g de peptone ont été mélangés avec 500 mL l'eau distillée. Puis le mélange a été stérilisé, refroidi, conditionné et étiqueté.

2° Etape 2. Isolement des bactéries lactiques :

- Ensemencement :

1 mL de yaourt nature a été introduit dans 9 mL d'eau peptonée pour une préculture à 37°C pendant 24 heures. Quelques dilutions ont été faites jusqu'à 10⁻⁵ pour diminuer la concentration de bactéries dans la préculture. De ces dilutions quelques gouttes ont été prélevées, puis ensemencées dans les boîtes de pétri sur MRS gélosé dans des conditions aseptiques. Puis les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 48h.

- Purification des colonies :

Pour avoir des colonies distinctement séparées, les colonies observées après 48 heures d'incubation de culture ensemencée ont été piquées et repiquées par strie sur milieu MRS gélosé contenu dans 5 boîtes de pétri : BP1 (boîte de pétri 1), BP2 (boîte de pétri 2), BP3 (boîte de pétri 3), BP4 (boîte de pétri 4), et BP5 (boîte de pétri 5). Ces dernières ont été incubées à 37°C pendant 48 heures. Des colonies isolées ont ainsi été obtenues, puis identifiées (cfr point 2.2.2. ci-dessous).

- Conservation :

Après identification des souches, leur conservation s'est faite par repiquage des souches isolées sur gélose MRS dans des tubes à essai placés ensuite dans le réfrigérateur à 4°C après quelques heures (moins de 24h) d'incubation.

b) Identification des souches de *Lactobacillus*

En s'inspirant de Ghozlane (2012) et Nour (2022) le test de la coloration de Gram, le test de catalase et le test de l'homo ou l'hétérofermentation ont été effectués pour confirmer ou infirmer que les bactéries lactiques

produites étaient des *Lactobacillus delbrucckii* dans les différentes boîtes de pétri (BP1, BP2 BP3, BP4, BP5).

1° Coloration de Gram

Ce test permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et d'utiliser ces propriétés pour classer les bactéries en Gram + et Gram -.

L'analyse s'est réalisée de la manière suivante :

- Sur une lame, une goutte d'eau distillée stérile et une colonie ont été déposées et étalées. La lame a été séchée en la faisant passer autour de la flamme, et colorée avec le violet de gentiane,
- Après une minute nous l'avons recouverte de lugol, et une minute supplémentaire après nous l'avons rincée avec de l'eau déminéralisée,
- Ensuite de l'alcool a été versé goutte à goutte sur la lame inclinée afin de la décolorer,
- Puis la lame a été recolorée en y mettant de l'eau distillée stérile et quelques gouttes de fuchsine. Après une minute, nous avons lavé doucement à l'eau déminéralisée,
- La lame a été séchée autour de la flamme et observée au microscope.

Les bactéries à Gram (+) ont une membrane cellulaire épaisse en protéine, ce qui leur permet de retenir la coloration violette du violet de gentiane. Ainsi elles apparaissent violettes au microscope. Les bactéries à Gram (-) quant à elles présentent une coloration orange en présence de la fuchsine (Bush & Schmidt, 2023).

2° Test de catalase

Ce test permet de distinguer les bactéries en catalase positive(+) et catalase négative (-), selon qu'elles sont capables ou non de produire des enzymes capables de libérer l'oxygène de l' H_2O_2 (l'eau oxygénée). Sur une lame en verre, 3 gouttes d' H_2O_2 ont été déposées et une colonie bactérienne y a été ajoutée. Puis nous avons observé, l'apparition (catalase +) ou pas (catalase -) des bulles de gaz sur les colonies bactériennes.

3° Test de l'homofémentation ou l'hétérofémentation

Étant donné que les *Lactobacillus* homofémentaires ne produisent pas de CO_2 pendant la fermentation, contrairement aux *Lactobacillus* hétérofémentaires (Morabito, 2018), nous avons fermenté des petites quantités de mélasse avec les colonies afin de constater par observation le dégagement (apparition de bulles d'air) ou pas de CO_2 .

- Préparation du moût de fermentation

Afin de faciliter sa fermentation, la mélasse a été mélangée avec de l'eau acidifiée à une concentration de 2,5g/L d'acide H_2SO_4 . Cette opération diminue la viscosité de la mélasse et hydrolyse le saccharose en sucre fermentescible (glucose) (Dumbrepatil et al., 2008).

Procédure : 2,55 g d'acide sulfurique 98% ont été portées au trait de jauge avec l'ajout de l'eau distillée dans un ballon jaugé à fond plat. 416,16 g de mélasse ont été portés au trait de jauge par ajout de cette eau dans un ballon jaugé de 1000 mL (dilution 2,4), afin d'avoir un moût de 171,2 g/L des sucres fermentescibles. Cette préparation est inspirée de celle faite pour la fermentation alcoolique à la distillerie de Kwilu-ngongo et de la littérature (Dumbrepatil et al., 2008).

- Fermentation de la mélasse

Cette étape a été réalisée en s'inspirant de la littérature avec une légère modification (Nurkhamidah et al., 2019).

Procédure : l'inoculum a été préparé en précultivant les colonies de *Lactobacillus delbrucckii* dans l'eau peptonée. La suspension a été ensuite incubée à 37°C jusqu'à ce qu'il y a eu apparition d'un trouble dans le milieu qui a signalé la multiplication des microorganismes. Après 48 heures, la mélasse a été stérilisée à 121°C pendant 20 minutes dans une autoclave de marque Hanna. La mélasse stérile refroidie a été mélangée avec l'inoculum dans un rapport de 10/1 et de l'hydroxyde de calcium de concentration 2 mol/L. Le mélange réactionnel a été agité à 150 tours/min pendant 5 jours à température ambiante.

Suivi de la fermentation : Le bouillon fermenté a montré un changement de pH au cours de la fermentation, que nous avons assimilé à la production de l'acide lactique. Les valeurs du pH ont été prélevées à l'aide du pH-mètre de marque Hanna après chaque 24 heures afin de suivre l'évolution de la fermentation.

- Purification de l'acide lactique

La récupération de l'acide lactique produit à partir du bouillon fermenté s'est réalisée suivant une méthodologie inspirée de la littérature avec une légère modification (Carboche, 2000 ; Vink et al., 2007 ; Rama, 2008).

Procédure : Le bouillon fermenté a été centrifugé à 2 000 tours/min pendant 20 minutes. Le surnageant contenant l'acide lactique a été séparé du culot (constitué des microorganismes) et récupéré au moyen d'une seringue. Le surnageant recueilli a été concentré dans un rotavapor de marque Heidolph. Le bouillon concentré a été refroidi puis acidifié à un pH de 2,0 environ par ajout de l'acide sulfurique afin d'hydrolyser le lactate de calcium en acide lactique. Un précipité de gypse est récupéré par centrifugation à 4000 tours/min. Le surnageant recueilli a été soumis à l'extraction liquide-liquide avec l'acétate d'éthyle dans un rapport de 1/1.5. Le mélange agité à 1400 tours par minute pendant 1h30' a été décanté après 20 heures de séparation des phases. La phase organique a été récupérée puis le solvant a été évaporé sous vide et l'acide lactique est à son tour recueilli et conservé à température ambiante.

2.2.2. Production de l'acide polylactique

a) Conversion de l'acide lactique en lactide

L'étape de la conversion s'est déroulée suivant la méthode proposée par [Ghadamyaria et al. \(2018\)](#) :

- Dans un ballon à fond rond de 1000 mL, ont été placés respectivement 15,93 g d'acide lactique, 0,56 g de KOH, 50 mL d'eau et 500 mL de toluène ;
- Au-dessus du ballon à fond rond, nous avons installé un Dean-Stark dans lequel nous avons mis 16 mL de toluène avant le début de la réaction ;
- Au-dessus de Dean-Stark, un réfrigérant a été installé afin de condenser la vapeur montante ;
- Le mélange a été chauffé à 140°C pendant 4 heures ;
- Au bout de 4 heures, le mélange réactionnel est placé dans un rotavapor afin de chasser le toluène sous vide. Le liquide obtenu à cette étape est le lactide produit.

La [figure 3](#) montre le schéma du montage Dean-Stark à droite (a), suivi du montage réalisé dans ce travail.

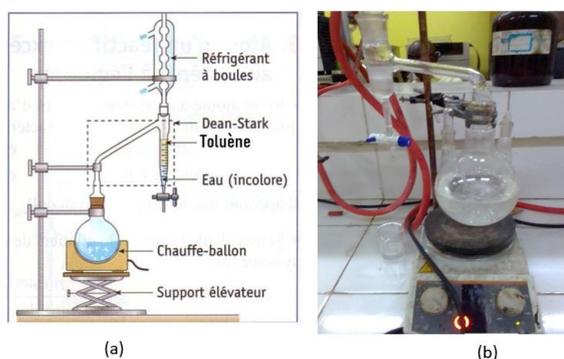


Figure 3. Montage Dean-Stark à droite (a) et montage réalisé dans ce travail (b)

- Test de cristallinité

Ce test inspiré de [Rama \(2008\)](#), stipule que le lactide se cristallise dans l'acétate d'éthyle. Pour ce faire une quantité de lactide a été mélangée avec l'acétate d'éthyle dans un rapport de 5 :3. Le mélange est porté à l'ébullition puis refroidi jusqu'à 5°C pendant 4 heures pour que la cristallisation se produise. Des cristaux blancs sont ensuite observés.

b) Polymérisation du lactide en acide polylactique (PLA)

La polymérisation du lactide en polylactide s'est réalisée suivant le protocole de [Lagrange & Faye \(2017\)](#). Le lactide et le toluène ont été mélangés sous un rapport 1:4(m/v), soit 10 g de lactide dans 40 mL de toluène. L'Octoate d'étain (II) $\text{Sn}(\text{C}_7\text{H}_{15}\text{COO})_2$ 5,666% par rapport au poids du lactide a été ajouté avec un peu d'alcool benzylique qui lui sert d'initiateur. Le mélange a été chauffé à reflux dans le toluène pendant 2h30. Le mélange réactionnel a été refroidi à la température ambiante puis le méthanol a été ajouté dans un rapport 1 : 10 avec le toluène afin d'arrêter la polymérisation. A l'issue de la réaction, le mélange réactionnel a été versé dans un bécher contenant du n-hexane dans un rapport 1 : 2, puis le tout a été agité (1500 tours/min) afin de précipiter le polymère produit.

La [figure 4](#) ci-dessous montre le montage de la réaction de la polymérisation réalisée au laboratoire.



Figure 4. Montage de la polymérisation

- Test de plastification de l'acide polylactique produit

Selon les résultats de [Lagrange & Faye \(2017\)](#), le PLA synthétisé par ROP est cassant et son mélange avec un plastifiant lui confère des propriétés plastiques. Ainsi nous avons étudié la plastification du PLA produit dans cette étude avec 5 et 10% de glycérol.

Procédure : 7 g de PLA produit ont été mélangés avec 0,7 g de glycérol dans un bécher. Le mélange a été

chauffé sous agitation manuelle, jusqu'à la gélatinisation du mélange. Le même procédé a été appliqué avec 5% de glycérol.

3. Résultats et Discussion

3.1. Caractéristiques de la mélasse

Le [tableau I](#) ci-dessous donne les valeurs caractéristiques de l'échantillon de la mélasse de canne à sucre obtenue à la sucrière de Kwilu-Ngongo.

Tableau I. Caractéristiques de la mélasse

N°	Paramètre	Valeur et unités
1	pH	5,25
2	Brix	84,9°
3	Densité	1,443
4	Saccharose	31,44
5	Taux des Sucres Réducteurs	12 %
6	Taux des Sucres totaux	43,44 %
7	Taux des Sucres convertis	45,09 %
8	Taux des Sucres Fermentescibles	41,09 %
9	Taux des Sucres inférentescibles	4 %
12	Pureté	37 %

Il ressort de ce tableau que la mélasse utilisée dans cette étude a un taux élevé de sucres fermentescibles (41,09 %). De ce fait, un moût de 171,2 g/L de sucres fermentescibles (en faisant la dilution 2,4) a pu être obtenu à partir de notre mélasse. Ces résultats sont en accord avec les résultats de [Dumbrepail et al., \(2008\)](#) qui ont trouvé un moût de concentration de 148 g/L à partir d'une mélasse ayant un taux de 35,52 % en sucres fermentescibles.

La valeur de pH obtenue (5,25) nous a conduits à prévoir un neutralisant pour la fermentation lactique car la mélasse est déjà légèrement acide et pourra devenir plus acide lors de la préparation du moût, ce qui pourra inhiber l'action des *Lactobacillus* si on ne neutralise pas le milieu.

Le degré Brix est le paramètre qui mesure la quantité de saccharoses dissoutes dans un liquide. La pureté de la mélasse est déterminée par le rapport ; taux de Saccharose sur degré Brix. Une valeur élevée de Brix par rapport à celle du taux de saccharose, diminuera la pureté de la mélasse.

Le taux de saccharose est 31,44 et le degré Brix est 84,9, ce qui fait que notre mélasse est à 37% pure.

Le taux de sucres convertis est déterminé par des formules expérimentales et exprime la quantité de sucres qui seront produits après l'hydrolyse de saccharose selon ICUMSA.

3.2. Caractéristiques des bactéries lactiques isolées

Le [tableau II](#) ci-dessous résume les résultats des différentes analyses caractéristiques effectuées sur les colonies isolées dans des différentes boîtes de pétri (BP1, BP2, BP3, BP4, BP5).

Tableau II. Caractéristiques

Souche N°	Aspect de la colonie	Coloration de Gram	Test de catalase	Morphologie	Mode de fermentation
BP1	Blanche	(+)	(-)	Petit bâtonnet arrondi	Homofermentaire
BP2	Blanche	(+)	(-)	Petit bâtonnet arrondi	Homofermentaire
BP3	Blanche	(+)	(-)	Petit bâtonnet arrondi	Homofermentaire
BP4	Blanche	(+)	(-)	Petit bâtonnet arrondi	Homofermentaire
BP5	Blanche	(+)	(-)	Petit bâtonnet arrondi	Homofermentaire

Légende : (+) : positif (-) : négatif BP : boîtes de pétri

La [figure 5](#) montre l'observation microscopique et macroscopique des colonies

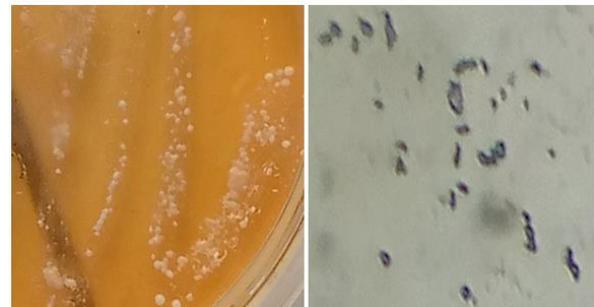


Figure 5. Illustration des observations microscopiques (grossissement x100) et macroscopiques des colonies

Au vu des résultats du [tableau 2](#) et de la [figure 5](#) le constat est que nous avons isolé une seule espèce de bactéries étant donné que tous les tests ont des résultats similaires pour toutes les colonies contenues dans les différentes boîtes de pétri (BP1, BP1, BP3, BP4, BP5). Les résultats obtenus pour toutes les bactéries sont les suivants : elles sont blanches, de gram +, de catalase (-), ayant une morphologie de bâtonnet arrondi et un mode de fermentation homofermentaire. De plus, ces bactéries ont colonisé le milieu sélectif MRS. Sur base de ces résultats, nous pouvons conclure que les bactéries isolées sont bel et bien du genre *Lactobacillus*. En effet, [Belarbi \(2011\)](#) mentionne que les colonies des *Lactobacillus* sont de couleur blanche et que ces bactéries sont dépourvues de vraie catalase. [Torriani et al. \(1999\)](#) précisent que le *delbrueckii subsp. Bulgaricus* se présente sous une morphologie en bâtonnets, et [Michaylova et al. \(2007\)](#) ajoutent que cette espèce est présente dans le yaourt nature. Nos bactéries étant isolées du yaourt nature, présentant une

morphologie en bâtonnet arrondi et une fermentation homofermentaire, sont du genre *Lactobacillus* de l'espèce *delbrueckii* et sous espèce *delbrueckii subsp. Bulgaricus*.

3.3. Fermentation

Le [tableau III](#) ci-dessous présente les résultats comparés de la fermentation des sucres fermentescibles de la mélasse de la présente étude et ceux d'une étude antérieure.

Tableau III. Résultats de la fermentation

Auteur	[] de Sucre fermentescibles (g/L de mélasse converti)	Qté d'acide lactique produite (g)	Rendement (%)	Temps de fermentation	pH au début	pH à l'arrêt	Conditions
La présente étude	171,2	98	63,6	5 jours	5,6	4,3	150 tr/min à T.A.
Dumbrepatil et al. (2008)	148	129	96,8	4,3 heures	5,3	Utilisation d'un tampon	150 tr/min à 42°C

Au vu des résultats présentés dans le [tableau III](#) ci-dessus, nous remarquons que [Dumbrepatil et al. \(2008\)](#) ont eu un rendement plus élevé que celui de la présente étude. Cela peut être dû au fait qu'ils ont utilisé un mutant Uc-3 de *Lactobacillus delbrueckii* alors que dans ce travail une souche sauvage a été utilisée. De plus, ils ont ajouté un tampon, et l'agitation réalisée dans leur étude était faite à chaud contrairement à celle de notre étude qui a été réalisée à température ambiante.

Tableau IV. Résultats de suivi de fermentation : Evolution du pH au fil des jours

Jour	pH	
	F.S.A. 37°C	F.A.A.T.A
1	5,60	5,60
2	5,50	5,45
3	5,35	5,00
4	5,01	4,30
5	4,80	4,20
6	4,70	4,10
7	4,61	4,08
8	4,60	4,08

Légende :

- F.S.A. 37°C : Fermentation sans agitation à 37°C
- F.A.A.T.A : Fermentation avec agitation à température ambiante

La diminution du pH de 5,6 à 4,6 pour la F.S.A. 37°C et de 5,6 à 4,08 pour la F.A.A.T. ([tableau IV](#)), montre qu'il y a eu production de l'acide lactique dans les deux cas. En faible proportion au premier jour de la fermentation parce que les bactéries devraient se multiplier dans le bouillon à fermenter, au deuxième et troisième jour la forte diminution de pH montre une grande production de l'acide parce que les bactéries se sont développées et ont atteint la maturité. La diminution de la production après ces deux jours est due à l'augmentation de l'acidité qui est inversement proportionnelle à l'activité des bactéries. Si nous considérons les variations de pH au deuxième et au

troisième jour afin de comparer la productivité dans les deux cas de fermentation, nous dirons que la fermentation sans agitation dans des bonnes conditions de températures d'incubation a une faible productivité que l'autre fermentation. Cela n'est dû au fait que le *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* produit l'acide lactique à des basses températures (inférieur à 20°C), mais étant anaérobique, il préfère s'accumuler au fond du réacteur ce qui lui permet de ne consommer qu'une petite quantité de sucre présent dans ce milieu. Ainsi l'homogénéisation est une optimisation de la consommation des sucres ([Dumbrepatil et al., 2008](#) ; [Morabito, 2018](#) ; [Nurkhamidah et al., 2019](#)).

3.4. Caractérisations de PLA

3.4.1. Production de lactide

12,5 g de Lactide ont été obtenus à partir de 15,93 g d'acide lactique donnant ainsi un rendement de 78,47%. [Ghadamyaria et al. \(2008\)](#) dans une étude ont obtenu un rendement de plus de 97%. La différence de rendement peut être due aux températures réactionnelles différentes. En effet, la température réactionnelle de l'étude de [Ghadamyaria](#) était de 140°C dans le toluène. Ce qui a inspiré de travailler au reflux du toluène dans ce travail (106 °C).

Analyse de Cristallinité du lactide dans l'acétate d'éthyle :

Nous avons vérifié la cristallinité (cfr le point 2.3.1. : test de cristallinité) dans l'acétate d'éthyle à 5°C pendant 4 heures. Le lactide produit n'a pas cristallisé dans ces conditions. Cela peut être dû aux proportions des isomères de l'acide lactique produit. Un mélange des formes isomères D(-) et L(+) de l'acide lactique produirait un lactide à cristallinité faible ([Dumbrepatil et al., 2008](#)). Les cristaux produits après un temps prolongé de 2 jours de plus que prévu n'ont pas présenté de bonne forme cristalline.

3.4.2 Production de PLA

A partir de 10 g de lactide mélangé avec l'octoate d'étain et l'alcool benzylique, une quantité de 9,2g de PLA a été produite. Le PLA est recueilli sous forme pâteuse. Le lactide utilisé pour cette production n'a pas présenté une bonne cristallinité. Ce qui aurait influencé la cristallinité de PLA. Un acide lactique ayant ses isomères D(-) et L(+) conduira à un lactide ayant ses isomères D(-) et L(-) dont la polymérisation produira un PLA à cristallinité très lente. La [figure 6](#) ci-dessous présente l'acide lactique (a) obtenu après fermentation, le lactide (b) obtenu après conversion et le PLA (c) précipité.

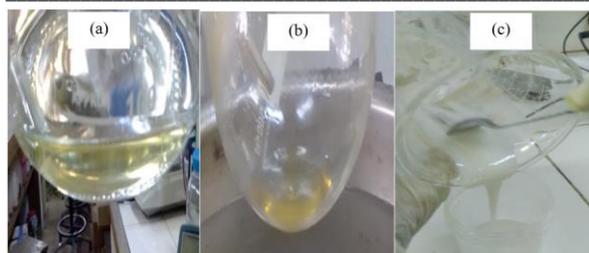


Figure 6. Présentation de l'acide lactique (a), le lactide (b) et le PLA (c)

- Plastification

Le PLA est très cassant, ce qui rend compliquée son utilisation dans des emballages (Lagrange & Faye, 2017), c'est ainsi qu'il est nécessaire de le mélanger avec un agent plastifiant.

L'agent plastifiant utilisé dans cette étude est le glycérol. Dans le but de certifier que le PLA a bel et bien été obtenu dans cette étude, nous avons procédé à la production de deux films bioplastiques, F1-PLA et F2-PLA, en mélangeant le PLA avec le glycérol 10% et 5% respectivement. Ces deux films sont présentés dans la figure 7 ci-dessous, avec (a) le PLA produit, (b) film F1-PLA et (c) films F1-PLA et F2-PLA.

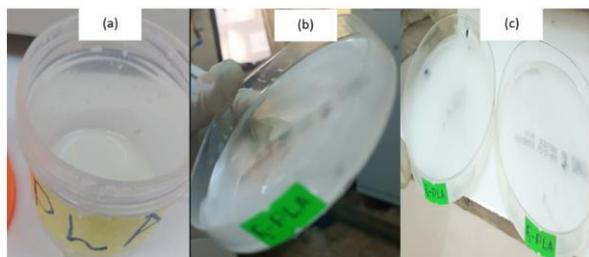


Figure 7. Films PLA (a) F1-PLA ; (b) F2-PLA (5) F1 & F2-PLA

Nous avons observé que notre polymère avait un comportement cassant sous chauffe et son mélange avec 5% de glycérol s'est plus faiblement gélifié qu'en présence de 10% de glycérol. Ce qui nous conduit à supposer que les propriétés plastiques du PLA dépendent des pourcentages des plastifiants ajoutés. Les deux films F1-PLA et F2-PLA ont séché après 5 jours à 30°C dans l'étuve. En effet la cristallisation du PLA est assez lente (Suryanegara et al., 2021).

- Etude comparative entre PLA de Lagrange & Faye (2017) et celui de ce travail

Tableau V. Etude comparative de PLA

Paramètre	PLA	PLA référence
Couleur	Blanche	Blanche
Comportement polymère seul	Cassant	Cassant
Comportement Polymère avec le plastifiant	Gélifiant plastique	Plastique

Il ressort de ces analyses que, notre produit n'a pas de différences observables avec l'acide polylactique produit par Lagrange & Faye (2017). Pour plus de précision il faudra faire les analyse plus poussée notamment l'Infrarouge.

4. Conclusion

Le présent travail avait pour objectif de produire de l'acide polylactique à partir de la mélasse de canne à sucre avec le *Lactobacillus delbrueckii* localement produit.

Ainsi après avoir isolé les bactéries lactiques dont les caractéristiques nous ont amenés à les considérer comme *Lactobacillus delbrueckii*, nous avons obtenu de la sucrière de Kwilu-Ngongo, la mélasse de canne à sucre ayant une concentration importante (410,9 g/L) de sucres fermentescibles. Cette mélasse a été diluée avec un facteur de dilution 2,4 donnant une concentration de sucres fermentescibles de 171,2 g/L. 1 L de cette mélasse diluée a été fermentée avec l'inoculum de *Lactobacillus delbrueckii* dans un rapport de 10/1. Cette fermentation a produit 98 g d'acide lactique après purification (63,6%). Cet acide lactique a été polymérisé en acide polylactique sous forme pâteuse (92%), en passant par le lactide (78,46%), par ouverture de cycle. La forme pâteuse du PLA obtenue au lieu de la forme cristalline attendue, montre que le *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* isolée dans cette étude a produit un mélange racémique d'acide lactique, lequel a produit un PLA pâteux. Un essai de la plastification du PLA produit a montré que, le polymère produit a un comportement plastique élevé en mélange avec 10% de glycérol.

De ces résultats, nous pouvons conclure que la production de l'acide polylactique est possible en RDC. La canne à sucre d'où provient la mélasse est facilement cultivable. De plus, les bactéries lactiques sont aisément produites localement et la majorité des matériels sont disponibles.

Dans l'avenir ce travail peut être poursuivi :

- Jusqu'à la plastification et moulage du PLA et
- Faire les analyses qualitatives sur le PLA notamment l'IR et la DRX
- Assimiler à l'échelle pilote ;
- Présenter un projet de production des emballages bioplastique à base de PLA au gouvernement.

Pour l'amélioration du rendement de la production de l'acide lactique nous recommandons

- la conception et la fabrication d'un incubateur agitateur pour la fermentation lactique ;
- Suivre à chaque étape les propriétés du produit (les *Lactobacillus*, l'acide lactique, et le lactide) qui influenceraient la suite du procédé ;
- Caractériser avec les analyses plus poussées l'acide polylactique ;

Références bibliographiques

- Belarbi, F. (2011). *Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes* [Mémoire de Magistère, Université d'ORAN Es Senia, Algérie]. https://www.researchgate.net/publication/338454567_Isolement_et_selection_des_souches_de_bacteries_lactiques_productrices_des_metabolites_antibacteriennes
- Bouabellou, H. & Bouzzenir, M. (2018). *Etude du pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques du lait et du yaourt vis-à-vis quelques bactéries pathogènes* [Mémoire de Master, université des Frères Mentouri Constantine d'Algérie] <https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2018/Etude%20du%20pouvoir%20inhibiteur%20des%20bact%20C3%A9ries%20lactiques%20du%20lait%20et%20du%20yaourt%20vis-%20C3%A0-vis%20quelques%20bact%20C3%A9ries%20pathog%20C3%A8nes..pdf>
- Bush, L. & Schmidt, C. (2023). Présentation des bactéries Gram positives. Consultée le 02 Septembre 2023. <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-bact%20C3%A9riennes-bact%20C3%A9ries-gram-positives/pr%20C3%A9sentation-des-bact%20C3%A9ries-gram-positives>
- Carboche, J., Fouache, C., Choque, J.C., Dufлот, P. et Dubois, E. (2001). Procédé de séparation et de purification d'acide lactique à partir d'un milieu de fermentation (00402858.5). Office européen des brevets. <https://patentimages.storage.googleapis.com/2d/3c/8d/c95c744aacb4c5/EP1094054A1.pdf>
- Copinschi, P. (2014). "La fin du pétrole : mythe ou réalité ?", CERISCOPE Environnement. Consulté le 05 juin 2023. <http://ceriscope.sciences-po.fr/environnement/content/part2/la-fin-du-petrole-mythe-ou-realite>
- Dumbrepail, A., Mukund, A., Chaudhari, S., Khire, J. et Gokhale, D. (2008). Utilization of Molasses Sugar for Lactic Acid Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Delbrueckii* Mutant Uc-3 in Batch Fermentation. *ASM Journals/Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), 333–335. Doi: 10.1128/AEM.01595-07
- Dussud, C. & Ghiglione, J.-F. (2021). Biodégradation des plastiques en mer. Consultée le 06/06/2022. <https://fondationtaraocean.org/app/uploads/2021/10/Dussud-et-Ghiglione-Regards.pdf>
- Fuentes-exposito, M., Alan, J.M., Martin, E., Joubert, C. et Gomez, J.P., (2022). Emballages plastiques: intérêts et potentiels des bio-sourcés. Consultée le 05 Juin 2023. https://www.academie-technologies.fr/wp-content/uploads/2022/01/Trimestriel_Fondation_AT_Emballages_plastiques_biosources_Janv_22.pdf
- Gélinas, L. (2013). *Plastiques Biosourcés: étude de leur performance environnementale comparativement aux plastiques* [Maîtrise en environnement, université de Sherbrooke]. https://savoirs.usherbrooke.ca/bitstream/handle/1143/7210/cufe_Gelinas_Laurent_essai365.pdf?sequence=1
- Ghadamyari, M., Chaemchuen, S., Zhou, K., Dusselier, M., Sels, B. F., Mousavi, B., & Verpoort, F. (2018). One-step synthesis of stereo-pure L, L lactide from L-lactic acid. *Catalysis Communications*, 114, 33-36. [Doi.org/10.1016/j.catcom.2018.06.003](https://doi.org/10.1016/j.catcom.2018.06.003)
- Ghozlane, D. (2012). *Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arômes (diacétyl)* [Mémoire de master, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie El-Harrach Alger]. http://dspace.ensa.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/242/1/ghozlane_d.pdf
- Kassay, J. (2015). La Gestion de Déchets Plastiques à Kinshasa : un autre défi environnemental à relever dans la conception des villes durables. Consultée le 21 mars 2022 https://www.codesria.org/general.assembly/IMG/pdf/Jules_Kassay_Ngur-Ikone.pdf
- Labonté, M. (2014). *Les bioplastiques dans les emballages Rigides : le Matériau, sa mise en*

- forme et sa modélisation [Thèse de Doctorat, Université de Montréal, Département de Génie Chimique].
https://publications.polymtl.ca/1365/1/2014_MichelLabonte.pdf
- Lagrange, P. & Faye, L. (2017). La synthèse du PLA. Consultée le 05 juin 2022.
<https://ramenettesciences.wordpress.com/2017/07/17/la-synthese-du-pla/>
- Michaylova, M., Minkova, S., Kimura, K., Sasaki, T. et Isawa, K. (2007). Isolation and characterization of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* from plants in Bulgaria. *Journal FEMS Microbiology Letters*, 269(1), 160–169. Doi:10.1111/j.1574-6968
- Morabito, D. (2018). *Production d'acide lactique par Lactobacillus casei sur lactosérum : études cinétiques, modélisation et simulation de procédé intégré* [Thèse de Doctorat, l'Institut National Polytechnique de Lorraine]. <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01751330>
- Mujinga, A., Mabika, w., Nkashama, J.-C., Mwamba, V. et Kidimbu, I. (2023). Problématique d'emballages plastiques à Kinshasa : Facteurs d'adoption du comportement écologique des ménages. *Revue Française d'Economie et de Gestion*, 4(4), 292 – 316. DOI 10.5281/zenodo.7813623
- Nour, S. (2022). *Recherche et isolement des bactéries à partir des boues activées, développement des aptitudes probiotiques* [mémoire de master, l'université des Frères Mentouri Constantine I, Algérie].
<https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2023/Recherche%20et%20isolement%20des%20bact%C3%A9ries.pdf>
- Ntirumenyerwa, B. (2018). Combattre la pollution plastique en république Démocratique du Congo : Les défis des récentes réglementations en la matière. Consultée le 21 mars 2019.
https://www.iucn.org/sites/dev/files/content/documents/wcel_international_regional_andnational_report_mihigo_fr.pdf,
- Nurkhamidah, S., Altway, A., Rahmawati, Y., Taufany, F., Hendriane, N., Ni'mah, H., Gunardi, I., Zulaikah, S., Ningrum, E., Nyamiati, R., Ramadhani, A. (2019). Utilization of molasses to produce Lactic Acid by using *Lactobacillus delbrueckii*. *Science et génie des matériaux*, 543(1), 012005.
- Rama, K., Rangaswamy, V., Jain, D., Jagdambalal, K., Patel, S., Kar, D., Ramachandran, S., Ganeshpure, A. et Satpathy, S. (2008). Production of polylactic acid (PLA) from renewable feed stocks (05784731.1). Brevet européen.
<https://patentimages.storage.googleapis.com/d1/d3/9e/6b10b19600a033/EP1753869B1.pdf>
- Simbu, A., Mangenda, H., Puela-Puela, F., Wamba, E., Tshibuabua, F., Masamuna, P., Lelo, F., Aloni, J., Nzau, C. (2022). Etude de la gestion actuelle des déchets urbains à Kinshasa par observation le long de l'avenue université. fhal-03565511v7
<https://doi.org/10.46298/eid.2022.9250>
- Suryanegara, L., Fatriasari, W., Zulfiana, D., Heris, S., Masruchin, N., Gutari, S. et Kemala T. (2021). Nouveau bioplastique antimicrobien à base de PLA-chitosane par addition de TiO₂ et ZnO. *Journal des sciences et de l'ingénierie de la santé environnementale*, 19(1): 415–425. Doi: [10.1007/s40201-021-00614-z](https://doi.org/10.1007/s40201-021-00614-z)
- Torriani, S., Zapparoli, G. et Dellaglio, F. (1999). Use of PCR-Based Methods for Rapid Differentiation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* and *L. delbrueckii* subsp. *Lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(10), frd 4351–4356.
<https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/aem.65.10.4351-4356.1999>
- Vink, E., Glassner, D., Kolstad, J., Wooley, R. et O'Connor, R. (2007). The eco-profiles for current and near-future Nature Works® polylactide (PLA) production. Consultée le 06 Mars 2022.
https://www.natureworkslc.com/~media/the_in_geo_journey/ecoprofile_lca/ecoprofile/ntr_eco_profile_industrial_biotechnology_032007_pdf.pdf