



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO



FACULTE DES SCIENCES

MENTION : BIOCHIMIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE

Domaine : Sciences et technologies

Parcours : Sciences des Aliments et Nutrition

*Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de master II*

**ETUDE DES CONDITIONS DE L'HYDROLYSE ACIDE DANS LA PRODUCTION  
DE BIOETHANOL A PARTIR DE L'AMIDON DE MANIOC**



Présentée par :

RAKOTOSAMIMANANA Harimalala

***Maître ès-Sciences***

Soutenu le **12 avril 2017** devant les membres du jury

Président : Professeur RANDRIANARIVO Hanitra Ranjàna

Encadreur : Docteur RAZAFINDRATOVO ANDRIAMANAMISATA Valérie

Examineurs : Docteur RAMAROSON Roseline

Docteur RAHANTRARIVONY Veronirina

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué :

Au laboratoire du Département de Recherches Technologiques (DRT) du FO.FI.FA. à Ambatobe.

A l'entreprise OBIO HAMY sise à Amboanjobe.

Au laboratoire de Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et de la nutrition (LABASAN) de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo.

Nous tenons à exprimer nos plus vifs et sincères remerciements:

Aux responsables de l'entreprise OBIO HAMY qui nous ont accepté en tant que stagiaire au sein de leur entreprise.

A Monsieur Ranaivoson Lalao Roger, Chef de Département de Recherches Technologiques (DRT) du FOFIFA qui nous a accueilli dans son laboratoire ; il a toujours fait preuve de disponibilité.

A tous les personnels du FO.FI.FA et du DRT par leurs collaborations et pour les nombreux conseils et critiques constructifs qu'ils nous ont donnés.

Au Professeur RANDRIANARIVO Hanitra Ranjàna qui fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance malgré ses nombreuses occupations

Au Docteur Valérie RAZAFINDRATOVO ANDRIAMANAMISATA qui, malgré ses grandes responsabilités, a bien voulu accepter avec gentillesse de nous guider, de nous encadrer et qui n'a ménagé ni son temps, ni ses conseils, ni sa patience tout au long de ce travail.

Aux Docteurs RAMAROSON Roseline et RAHANITRARIVONY Veronirina qui ont aimablement accepté de consacrer du temps pour examiner ce mémoire.

A mes parents, à toute ma famille et à tous ceux qui nous ont soutenus pendant ces longues années d'études.

## **TABLES DES MATIERES**

LISTE DES FIGURES .....	i
LISTE DES TABLEAUX.....	ii
LISTE DES ABREVIATIONS .....	iii
GLOSSAIRE.....	iv
LISTE DES ANNEXES .....	v
INTRODUCTION GENERALE.....	1
<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
1. MANIOC .....	2
1.1 GENERALITES .....	2
1.2 SYSTEMATIQUE ET DESIGNATION .....	2
1.2.1 Systématique .....	2
1.2.2 Désignation .....	3
2. AMIDON .....	3
2.1 GENERALITES.....	3
2.2 COMPOSITION CHIMIQUE DE L'AMIDON .....	3
2.2.1 Amylose .....	3
2.2.2 Amylopectine.....	4
2.3 CARACTERISTIQUES DE L'AMIDON DES TUBERCULES DE MANIOC .....	4
2.4 COMPOSES MINORITAIRES DES TUBERCULES DE MANIOC .....	4
2.5 TRANSFORMATIONS HYDRO THERMIQUES DE L'AMIDON .....	5
2.5.1 GONFLEMENT .....	6
2.5.2 GELATINISATION.....	6
2.5.3 GELIFICATION .....	6
3. BIOETHANOL.....	7
4. HYDROLYSE DE L'AMIDON.....	7
4.1 LES DIFFERENTS TYPES D'HYDROLYSES .....	8

4.1.1 Hydrolyse acide .....	8
4.1.2 Hydrolyse enzymatique.....	8
4.1.3 Hydrolyse mixte.....	9
4.2 LES PRODUITS D'HYDROLYSE DE L'AMIDON.....	9
4.2.1 Dextrine.....	9
4.2.2 Maltose.....	10
4.2.3 Glucose .....	10
5. FERMENTATION.....	11
5.1 DEFINITION.....	11
5.2 LA LEVURE.....	12
a) Classification de la levure.....	13
6. DISTILLATION .....	13

## **MATERIELS ET METHODES**

1. AMIDON.....	14
1.1 DETERMINATION DE LA TENEUR EN AMIDON ; EN AMYLOSE ET EN AMYLOPECTINE .....	14
1.1.1 LA METHODE POLARIMETRIQUE .....	14
1.1.2 DETERMINATION DU POUVOIR ROTATOIRE P.....	14
1.1.3 DETERMINATION DE POUVOIR ROTATOIRE P' .....	14
1.2 DOSAGE DE L'AMYLOSE.....	15
1.2.1 EXTRACTION DE L'AMIDON .....	15
1.2.2 PREPARATION DE LA PRISE D'ESSAI.....	31
1.2.3 PREPARATION DE LA GAMME DE CONCENTRATION ET COURBE ETALON .....	16
1.2.4 PREPARATION DE L'ESSAI A BLANC .....	17
1.3 DOSAGE DE L'AMYLOPECTINE.....	17
2. DIAGRAMME DE FABRICATION DU BIOETHANOL.....	18

3. PREPARATION DU GEL DE MANIOC .....	19
4. HYDROLYSE CHIMIQUE.....	19
4.1 MODES OPERATOIRES DES HYDROLYSES AVEC LA VARIATION DE CES PARAMETRES.....	20
4.1.1 Hydrolyse avec l'H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> et l'HCl, avec une suspension (P/V) variable 9 et 10% ..	20
4.1.2 Hydrolyse avec un pH variable.....	20
4.1.3 Hydrolyse avec l'H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> et l'HCl fait en fonction de la durée.....	20
4.1.4 Hydrolyse fait avec des températures variées 80°C, 90°C et 100°C .....	20
5. HYDROLYSE ACIDE REALISEE A MOYENNE ECHELLE OU <i>IN VIVO</i> .....	20
6. DOSAGE DE L'HYDROLYSAT PAR REFRACTOMETRIE .....	21
7. DOSAGE DES SUCRES REDUCTEURS .....	21
7.1 Préparation de la gamme étalon.....	22
7.2 PREPARATION DE LA SOLUTION A DOSER.....	23
8. LA REVIVIFICATION DES LEVURES .....	24
9 FERMENTATION.....	25
9.1 LA FERMENTATION.....	25
10. DISTILLATION .....	26
<b>RESULTATS ET INTERPRETATIONS</b>	
1. LA TENEUR EN AMIDON .....	27
2. LA TENEUR EN L'AMYLOSE ET EN L'AMYLOPECTINE .....	27
3. HYDROLYSE CHIMIQUE.....	28
3.1 RESULTATS DES HYDROLYSES ACIDES <i>IN VITRO</i> .....	28
3.2 LES PARAMETRES OPTIMUMS IDENTIFIES .....	32
3.3 RESULTATS DE L'HYDROLYSE ACIDE <i>IN VIVO</i> .....	33
3.4 DIFFERENCES ENTRE LES CONDITIONS EXPERIMENTALES <i>IN VITRO</i> ET <i>IN     VIVO</i> .....	33
4. RESULTATS DE FERMENTATION.....	34
4.1 RESULTATS DE FERMENTATION DE L'EXPERIENCE <i>IN VITRO</i> .....	34

4.2 RESULTATS DE FERMENTATION DE L'EXPERIENCE <i>IN VIVO</i> .....	36
5. RESULTATS DES DISTILLATIONS.....	36
6. RESUME DE TOUS LES RESULTATS.....	37
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ET WEBOGRAPHIES.....</b>	<b>39</b>
<b>ANNEXES</b>	

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation chimique de l'amylose : source BULEON et al.,1990 .....	3
Figure 2 : Représentation chimique de l'amylopectine : source BULEON et al.,1990 .....	4
Figure 3 : Différents états du grain d'amidon placé en présence d'un excès d'eau et soumis au chauffage-refroidissement (ANGELLIER,2005).....	6
Figure 4 : Comportement d'un amidon lors de la cuisson et du refroidissement.....	7
Figure 5 : Mécanisme de l'hydrolyse acide de l'amidon : cas de la liaison $\alpha$ : (1- 4) d'après (BERMILLER,1965).....	8
Figure 6: Représentation chimique de la dextrine.....	9
Figure 7 : Représentation chimique du maltose selon HAWORTH .....	10
Figure 8 : Représentations en chaise du glucose.. .....	10
Figure 9 : Fermentation du glucose en éthanol par la voie d'Embden -Meyerhof - Parnas.....	12
Figure 10 : Diagramme général de la fabrication du bioéthanol.....	18
Figure 11 : Variation de la densité durant la fermentation in vitro .....	35

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition en matière organique et en cendre du cylindre central du tubercule de manioc par rapport à la matière sèche .....	5
Tableau 2: Teneurs en minéraux du manioc par rapport à la matière sèche .....	5
Tableau 3 : Préparation de la gamme de concentration en amylose .....	16
Tableau 4 : Etablissement de la gamme étalon du D.N.S .....	23
Tableau 5 : Préparation des solutions à doser .....	23
Tableau 6 : Pouvoirs rotatoires.....	27
Tableau 7 : Densité optique de la gamme de concentration en amylose.....	28
Tableau 8 : Evolution des sucres réducteurs formés en fonction de la suspension (P /V).....	28
Tableau 9 : Evolution des sucres réducteurs en fonction du pH pendant une expérience de 3heures .....	29
Tableau 10 : Evolution des sucres réducteurs en fonction de la durée.....	30
Tableau 11 : Evolution des sucres réducteurs en fonction de la température .....	31
Tableau 12 : Résultats de l'hydrolyse <i>in vitro</i> réunissant les paramètres optima identifiés ....	32
Tableau 13 : Résultat de l'hydrolyse <i>in vivo</i> réunissant les paramètres optimums identifiés .	33
Tableau 14 : Résultat de la fermentation des expériences <i>in vitro</i> .....	34
Tableau 15 : Résultat de la fermentation des expériences <i>in vivo</i> .....	36
Tableau 16 : Résultat de distillation des tests <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> .....	36
Tableau 17 : Récapitulation.....	37

## LISTE DES ABREVIATIONS

**DNS** : dinitrosalicylate de sodium

**D.O** : densité optique

**°GL** : degré Gay –Lussac

**HCl** : acide chlorhydrique

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : acide sulfurique

**nm** : nanomètre

**P/V** : Poids/ Volume

**P/P** : Poids /Poids

## **GLOSSAIRE**

**Déperdition** : Perte graduelle ou disparition diffuse

**Gélatinisation** : Procédé par lequel les granules d'amidon sont complètement brisées par une combinaison d'humidité, de chaleur et de pression

**Gélification** : Processus aboutissant à la formation d'un gel

**Revivification** : Action de revivifier

## **LISTE DES ANNEXES**

**Annexe 1** :Préparation des solutions de CARREZ I et CARREZ II pour le dosage de l'amidon

**Annexe 2** :Préparation dudinitrosalycilate de sodium

**Annexe 3** : Densité optique des gammes étalons du dosage au D.N.S.

**Annexe 4** : Centrifugeuse

# **INTRODUCTION GENERALE**

La crise climatique et la crise énergétique font partie des plus grands défis de l'humanité, elles sont dues à l'effet de la combustion des énergies fossiles et aussi à la dégradation des ressources naturelles. La consommation énergétique est constamment en croissance d'où le recours à la recherche et au développement d'autres sources d'énergies alternatives comme les biocarburants : l'éthanol. La production de biocarburants à partir des végétaux amylacés comme le manioc et le maïs ou des végétaux sucriers comme la canne à sucre et la betterave se développe.

La première étape de la fabrication du bioéthanol consiste en l'hydrolyse des végétaux sucriers ou amylacés pour obtenir un jus contenant de l'amidon. La deuxième étape est la fermentation de ce jus. La fermentation alcoolique est la transformation des sucres en alcool éthylique (transformation par des levures présentes à l'état naturel ou rajoutées) (FIMARC, 2008). Suite à cette étape, l'éthanol est produit dans des conditions anaérobies ou en absence d'oxygène (MEEDDAT, 2008). La dernière étape est la distillation qui sert à augmenter le degré alcoolique du produit.

L'entreprise OBIO HAMY se lance dans la production d'éthanol à partir du manioc. Le manioc a été choisi comme matière première vue la qualité de son amidon et sa teneur en amidon élevée. La culture de manioc est courante à Madagascar, cette plante se prête à la polyculture car il supporte la sécheresse et les sols infertiles (CEBALLOS, 2006). L'extraction et la transformation de son amidon est nécessaire pour cette autre source d'énergie qui est l'éthanol. L'amidon du manioc est connu par sa bonne qualité et sa teneur en humidité assez faible. L'hydrolyse de l'amidon de manioc permet la libération des sucres fermentescibles pouvant être transformés en bioéthanol après distillation.

Pour la réalisation de ce travail une recherche a été menée dans le but d'optimiser l'hydrolyse en variant plusieurs paramètres afin d'améliorer la production d'éthanol à partir de l'amidon de manioc. Les paramètres à varier sont : le pH, la durée, la température et la concentration en suspension.

Après une brève introduction, la première partie du document est consacrée aux généralités ; dans la deuxième partie, les matériels et méthodes sont détaillés ; ensuite les résultats sont commentés dans la troisième partie, et pour terminer quelques conclusions ainsi que des perspectives sont présentées.

# REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

## **1. MANIOC**

### **1. GENERALITES**

Le manioc est un arbuste de la famille des Euphorbiacées, originaire du Brésil (CECIL, 1993), il sert surtout d'aliment direct aux hommes et aux animaux ; il est aussi également utilisé dans l'industrie agro-alimentaire par exemple. Le manioc est une plante peu exigeante qui se contente des sols les plus divers ; il peut s'adapter à tout type de climat. Le manioc est cultivé presque dans toutes les régions de Madagascar et constitue le deuxième aliment énergétique de base de la population. Il occupe la deuxième place aussi bien en superficie cultivée qu'en volume de production annuelle après le riz, et la troisième place dans les cultures vivrières après le riz et le maïs. Le manioc est un végétal qui contient beaucoup d'amidon, ses tubercules sont surtout constitués de glucides ; c'est donc un aliment énergétique qui apporte beaucoup de calories. L'amidon de manioc est largement utilisé à cause des caractéristiques qui sont appropriées pour de telles utilisations, à cause des propriétés physiques et chimiques particulières de ses granules.

### **1.2. SYSTEMATIQUE ET DESIGNATION**

#### **1.2.1. Systématique**

Il est connu botaniquement sous le nom de *Manihotesculenta* Crantz et sous le nom vernaculaire de « mangahazo, balahazo, kajaha » dans la vie quotidienne. Il présente plus de 300 variétés groupées dans deux variétés : douces et amères (ACCT- STEC, 1981; RAMARJAOMA, 2001; RANAIVOSON, 2010)

La classification du manioc est la suivante :

REGNE : VEGETAL

EMBRANCHEMENT : ANGIOSPERMES

CLASSE : DICOTYLEDONES

ORDRE : EUPHORBIALES

FAMILLE : EUPHORBIACEAE

GENRE : *Manihot*

ESPECE : *esculenta*

### 1.2.2. Désignation

Scientifiquement, la plante de manioc porte le nom de « *ManihotesculentaCrantz* » selon les botanistes([ACCT- STEC,1981](#))

## 2. AMIDON

### 2.1. GENERALITES

L'amidon est une macromolécule simple formée de plusieurs milliers d'unités de glucose ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub>, reliées par des liaisons  $\alpha$ -glycosidiques entre un atome de carbone de l'un des glucoses et le groupement hydroxyle lié au C4 du glucose suivant. L'amidon est composé de deux sous unités de polymères de structure primaire différente : l'amylose molécule linéaire (20%) et l'amylopectine molécule ramifiée (80%)

### 2.2. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'AMIDON

#### 2.2.1 Amylose

L'amylose représente 15 à 20 % de la plupart des amidons ; c'est une molécule d'amidon composée de 200 unités de D-glucoses. L'amylose est un polymère essentiellement linéaire constitué d'unités de D-glucose liées par des liaisons de types  $\alpha$  : (1→4) liaison avec l'oxygène glucosidique en position axiale. Ces molécules linéaires peuvent être faiblement ramifiées.

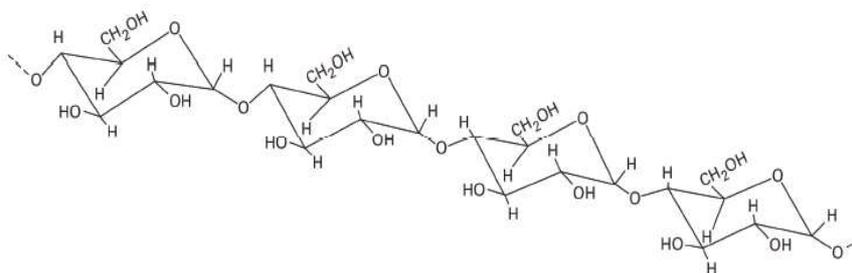


Figure 1: Représentation chimique de l'amylose : source [BULEON et al.,1990](#)

### 2.2.2 Amylopectine

L'amylopectine est le constituant principal de la plupart des amidons (70 à 100 %). Contrairement à la longue chaîne linéaire d'amylose, l'amylopectine est composée de multiples courtes chaînes d'unités de glucoses, reliées entre elles par des liaisons  $\alpha$  (1,6).

L'amylopectine est un polymère fortement branché constitué de résidus Dglucopyranose liés par des liaisons  $\alpha$ .

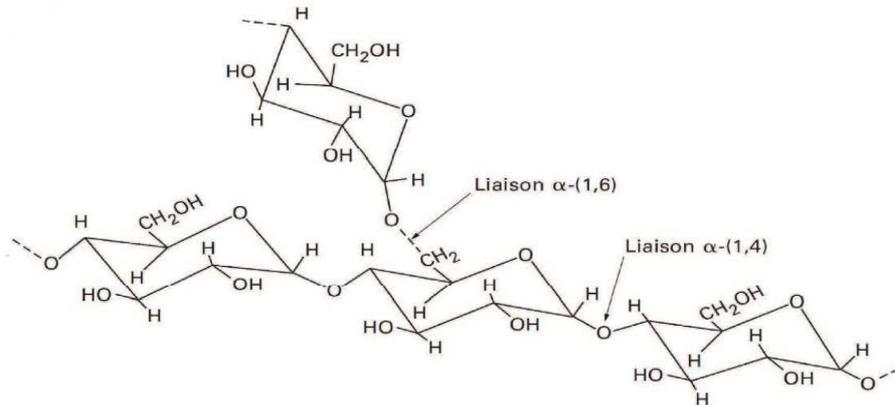


Figure 2 : Représentation chimique de l'amylopectine : source [BULEON et al., 1990](#)

### 2.3. CARACTERISTIQUES DE L'AMIDON DES TUBERCULES DE MANIOC

Le manioc est caractérisé par sa haute teneur en amidon et sa teneur élevée en humidité jusqu'à 16%, en fonction de la manière dont il est traité et stocké. L'amidon contient de petites quantités de protéines, de minéraux, de fibres et de graisses alimentaires. L'amidon de manioc se transforme en un état gélatineux relativement rapide lors de la cuisson à l'eau, et reste relativement fluide après refroidissement. Cette caractéristique le rend attractif pour une utilisation dans le secteur industriel. L'amidon de manioc est connu pour sa viscosité, ceci le rend approprié pour des applications industrielles.

### 2.4. COMPOSES MINORITAIRES DES TUBERCULES DE MANIOC

COSTE et SILVESTRE (1987) ont étudié la composition du cylindre central de la racine de manioc par rapport à la matière sèche. Cette composition varie selon l'âge de la plante, la variété de manioc utilisé, du sol et du climat.

Tableau 1 :Composition en matière organique et en cendre du cylindre central du tubercule de manioc par rapport à la matière sèche

Glucide (amidon)	91%
Lipide	0,5%
Protide	2%
Fibre	4%
Cendre	2,5%

Source : (COSTE et SILVESTRE ,1987)

Selon OKE (1966), les teneurs en minéraux du manioc par rapport à la matière sèche figurent dans le tableau suivant

Tableau 2: Teneurs en minéraux du manioc par rapport à la matière sèche

Sodium (Na)	0,84%
Potassium (K)	1,38%
Calcium (Ca)	0,13%
Magnésium (Mg)	0,04%
Phosphore (P)	0,15%

## **2.5. TRANSFORMATIONS HYDRO THERMIQUES DE L'AMIDON**

A température ambiante, les grains d'amidon sont insolubles dans l'eau (dans la gamme de pH compris entre 3 et 10). Cependant, en présence d'un excès d'eau, à une température supérieure à 60°C, le grain l'amidon passe successivement par trois états : gonflé, gélatinisé et solubilisé (ou empois). Au cours du refroidissement l'amidon va donner un gel (BULEON *et al.*, 1990).

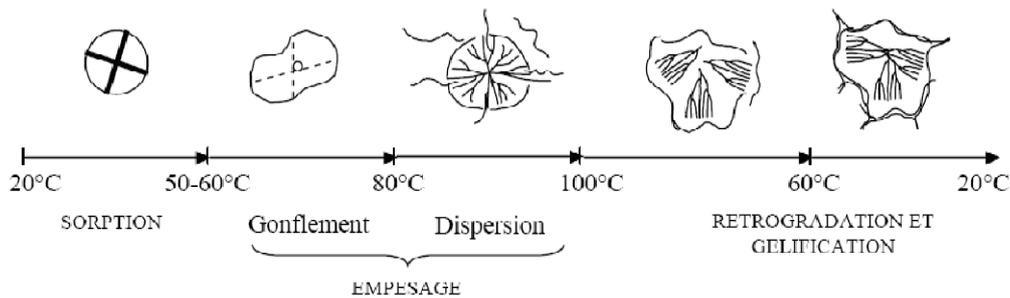


Figure 3 : Différents états du grain d'amidon placé en présence d'un excès d'eau et soumis au chauffage-refroidissement (ANGELLIER,2005)

### 2.5.1. GONFLEMENT

A des températures supérieures à 60 °C et en présence d'un excès d'eau, les grains d'amidon subissent un processus complexe : le gonflement irréversible du grain dû à la rupture des liaisons hydrogène(ZOBEL*et al.*,1988 ; DONOVAN,1979)

### 2.5.2. GELATINISATION

La gélatinisation est l'une des premières étapes communes à de nombreuses applications industrielles de l'amidon. Elle est définie comme la perte de la structure semi-cristalline du granule d'amidon à la suite d'un traitement hydro thermique. La gélatinisation s'accompagne d'un gonflement du granule d'amidon ainsi que de l'augmentation de la viscosité de la suspension d'amidon (ADRIAN*et al.*, 1995). La gélatinisation de l'amidon qui s'opère en présence d'un excès d'eau s'effectue en deux étapes : gonflement des grains et dissolution des macromolécules (BULEON*et al.*, 1998).

### 2.5.3. GELIFICATION

La formation d'un gel d'amidon s'effectue également en deux étapes. Premièrement il y a une séparation de phases de type polymère-polymère et polymère-eau qui a lieu à des températures inférieures à 90°C. Elle résulte d'une part de l'incompatibilité de l'amylose et de l'amylopectine en solutions très concentrées (concentration  $\geq 3\%$  P/V) et d'autre part d'une interaction défavorable des polymères avec l'eau. Deuxièmement il y a l'étape qui consiste en une réorganisation des portions de chaînes linéaires d'amylose ou de grappes des chaînes d'amylopectine. Il s'agit de la recristallisation ou rétrogradation (MILESE*et al.*,1984). Cette réorganisation se caractérise d'abord par une transition du type pelote statistique au niveau de

la double hélice des segments de chaînes polymères et ensuite par une cristallisation par empilement de chaînes (BULEONet al.,1990). Les gels sont donc formés de deux phases de plus de 70% du même polymère. La composition de chacune des deux phases dépend principalement du degré de gélatinisation et du rapport amylose/amylopectine dans le grain d'amidon (BULEONet al.,1990 ; LELOUP, et al.,1991)

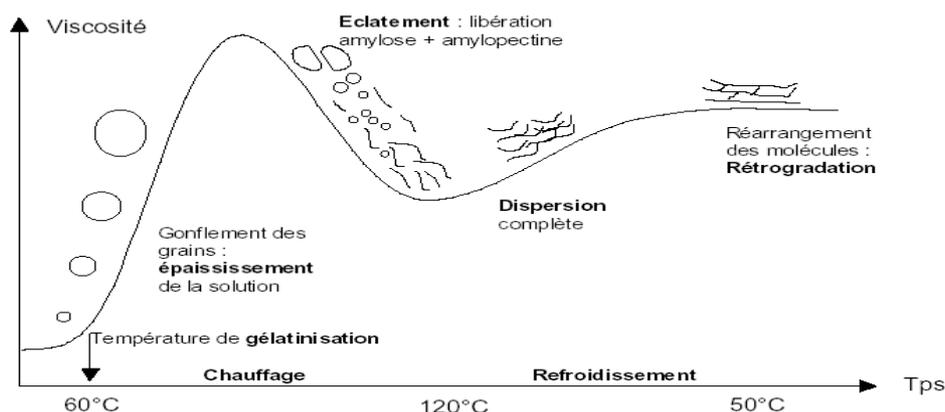


Figure 4 : Comportement d'un amidon lors de la cuisson et du refroidissement

(YITZHAK,1999)

### 3. BIOETHANOL

Le bioéthanol est un alcool éthylique ou éthanol produit à partir des plantes riches en sucre comme les betteraves et la canne à sucre ; ou riche en amidon comme le manioc et les céréales. Le bioéthanol est obtenu par un processus comprenant plusieurs étapes qui sont l'hydrolyse de l'amidon donnant les sucres fermentescibles ; la fermentation au cours de laquelle la levure transforme les sucres résultant de l'hydrolyse en alcool ; et la distillation permettant d'obtenir le bioéthanol.

### 4. HYDROLYSE DE L'AMIDON

L'hydrolyse est une réaction de destruction d'une substance chimique par l'eau. En général, il y a trois types d'hydrolyse : l'hydrolyse acide, l'hydrolyse enzymatique et l'hydrolyse mixte.

## 4.1. LES DIFFERENTS TYPES D'HYDROLYSES

### 4.1.1. Hydrolyse acide

Selon l'auteur Oliva 2003, l'hydrolyse acide est le procédé le plus étudié dans le cadre de la production d'éthanol. L'hydrolyse acide consiste en une réaction chimique utilisant des catalyseurs acides comme l'acide chlorhydrique, sulfurique, phosphorique, nitrique ou formique ; les acides chlorhydriques et sulfuriques étant les seuls à être utilisés à échelle industrielle. On note que deux types d'hydrolyses acides existent : l'hydrolyse acide avec des acides dilués et l'hydrolyse acide avec des acides concentrés (NEGRO,1991).

Lors de l'hydrolyse acide : l'acide augmente la vitesse de réaction de l'hydrolyse d'où son appellation catalyseur.

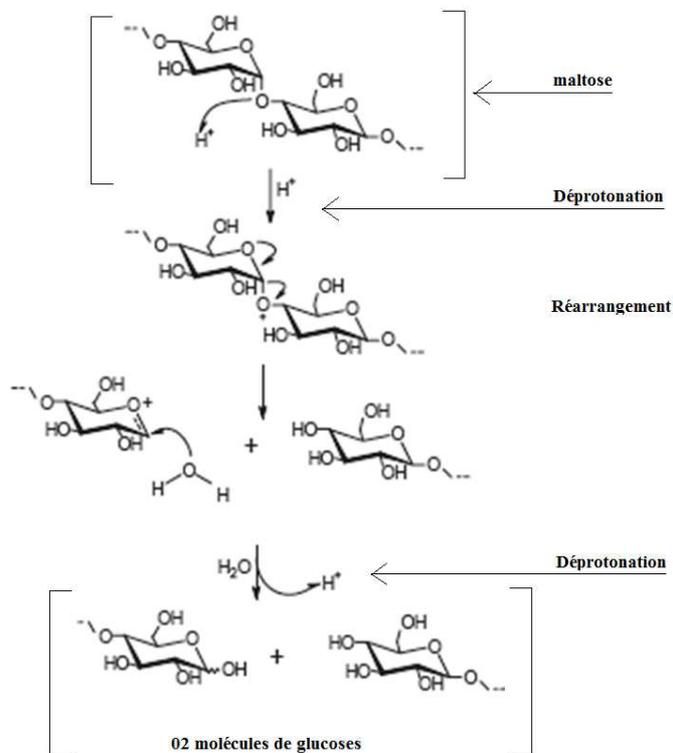


Figure 5 : Mécanisme de l'hydrolyse acide de l'amidon : cas de la liaison  $\alpha$  : (1- 4)  
d'après(BERMILLER,1965)

### 4.1.2. Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique diffère de l'hydrolyse acide en utilisant des enzymes appelées hydrolases à la place des acides. L'hydrolyse enzymatique présente plusieurs avantages par rapport à l'hydrolyse acide : il s'agit d'un procédé respectueux de l'environnement, offrant la possibilité d'atteindre d'assez bons rendements. De plus, son coût est faible, comparé aux procédés acides (ROMANO *et al.*, 2005).

### 4.1.3. Hydrolyse mixte

C'est la combinaison de l'hydrolyse enzymatique et de l'hydrolyse acide.

## 4.2. LES PRODUITS D'HYDROLYSE DE L'AMIDON

L'hydrolyse de l'amidon de manioc libère les molécules d'oses constituant l'amidon de départ. Les produits d'hydrolyse constituent une gamme de matières sucrantes : maltodextrines et dextroses, fructose, les dextrines, les maltoses et les glucoses.

### 4.2.1. Dextrine

Les dextrines sont des glucides solubles et amorphes, de formule brute ( $C_6H_{10}O_5$ ). Ce sont des produits incolores en solution et dextrogyres. Elles sont obtenues par dessiccation ou hydrolyse acide de l'amidon. Les dextrines sont des mélanges de gluco-oligosides (des oligosides de glucose) linéaires dont les unités de glucose sont liées par des liaisons osidiques du type  $\alpha$ -(1,4) mais dont le groupe est lié par une liaison osidique  $\alpha$ -(1,6) *n*.

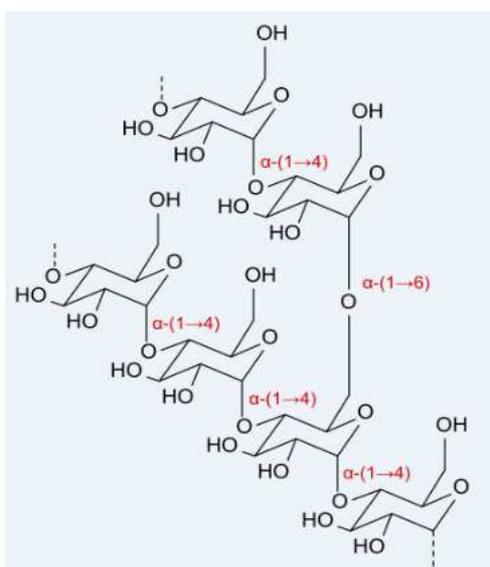


Figure 6: Représentation chimique de la dextrine

#### 4.2.2. Maltose

Le maltose est un disaccharide formé de deux molécules d' $\alpha$ -D-glucose, liées par une liaison osidique entre le carbone 1 (réducteur) de l'une et le carbone 4 (alcool secondaire) de l'autre.

Du sucre obtenu par saccharification incomplète de l'amidon au moyen du malt et se dédoublant en deux molécules de glucose : c'est le sucre de malt. L'hydrolyse de l'amidon donne la dextrine, substance soluble, puis du maltose. Le maltose a un pouvoir sucrant légèrement inférieur au saccharose. (BAHRAN *et al.*, 2012)

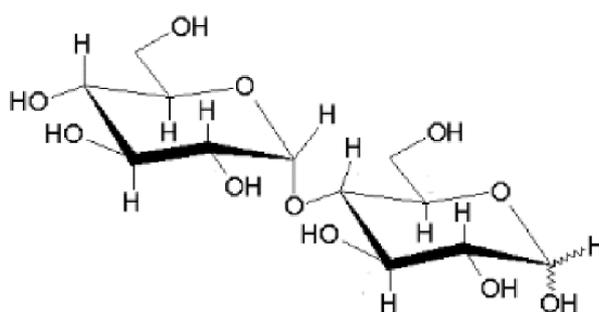
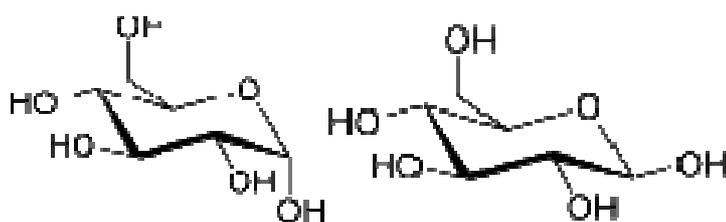


Figure 7: Représentation chimique du maltose selon HAWORTH.

#### 4.2.3. Glucose

Le glucose est un sucre monosaccharide sous forme cyclique, appartenant à la famille des hexoses : ce sucre contient six atomes de carbone donc de formule chimique  $C_6H_{12}O_6$ .



$\alpha$ -D-Glucopyranose  $\beta$ -D-glucopyranose

Figure 8 : Représentations en chaise du glucose

## 5. FERMENTATION

### 5.1. DEFINITION

Le mot " **fermentation** " vient du verbe latin " **fermentare**" qui veut dire " bouillonner " (SCRIBAN,1993). Une double définition de la fermentation est donnée par (DEMEYER *et al.*,1981): d'une part, la fermentation recouvre l'ensemble des processus de transformation conduisant un substrat organique à un métabolite particulier avec libération d'énergie. Selon la nature du métabolite synthétisé par le microorganisme, on parle de fermentation alcoolique, lactique, acétique, méthanique. D'autre part, la fermentation d'un point de vue technologique se définit comme l'ensemble des opérations qui permet de cultiver des microorganismes et de contrôler leurs activités biosynthétiques : production de biomasse microbienne, d'enzymes ou d'autres molécules organiques.

La fermentation correspond à la transformation des substrats carbonés. En particulier, c'est le catabolisme des sucres simples que les levures fermentaires produisent en conditions anaérobies de l'alcool éthylique et d'anhydride carbonique (MOLL,1991). Les séquences réactionnelles impliquées dans cette conversion sont bien connues sous le nom de " voie d'Embden - Myerhof – Parnas

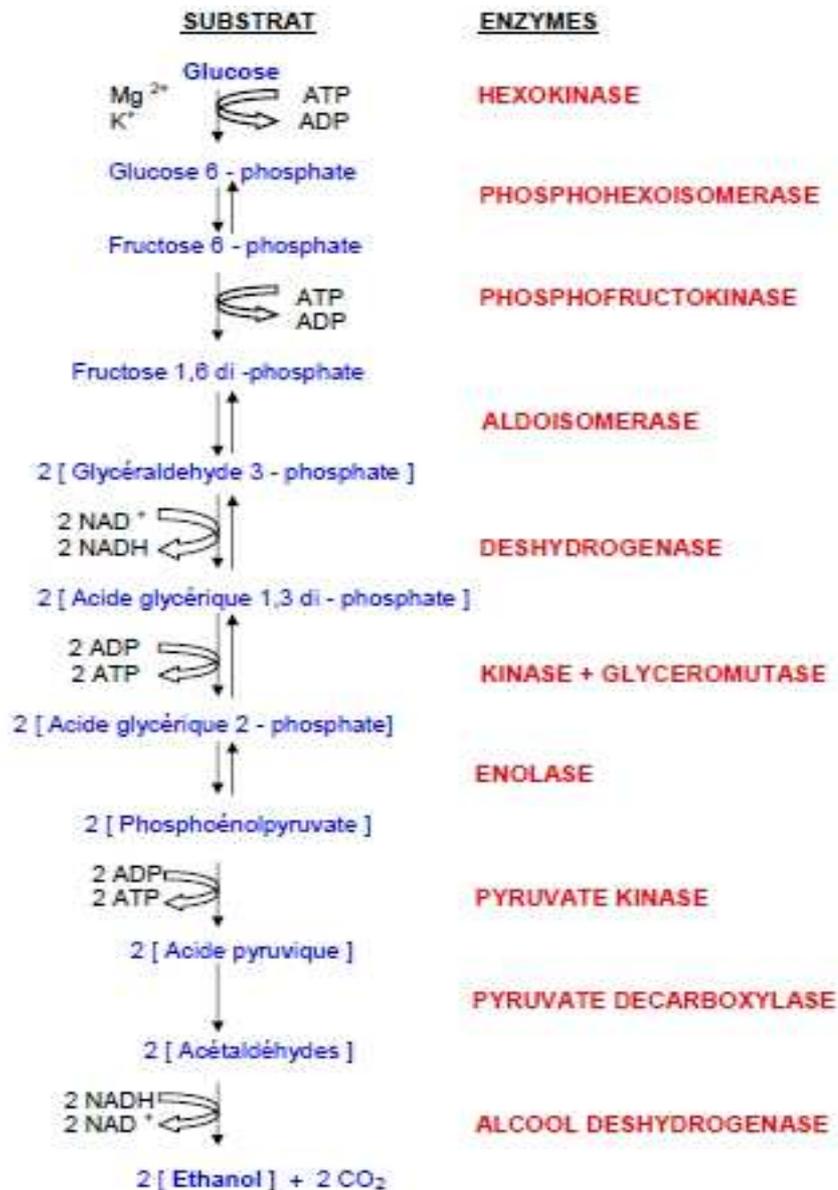


Figure 9: Fermentation du glucose en éthanol par la voie d'Embden -Meyerhof - Parnas(MOLL, 1991 ; SCRIBAN,1993)

## 5.2. LA LEVURE

Actuellement, l'un des microorganismes le plus utilisé industriellement est la levure *Saccharomyces cerevisiae* qui constitue la principale espèce utilisée par l'homme. Elle effectue la fermentation alcoolique dont les produits terminaux sont l'alcool et le gaz carbonique. Les meilleures souches ont été sélectionnées au fil des temps et au fil des siècles par le savoir-faire de l'homme (SCRIBAN,1993).

a) **Classification de la levure**

<b><u>Règne</u></b>	: VEGETAL
<b><u>Embranchement</u></b>	: THALLOPHYTES
<b><u>Sous-embranchement</u></b>	: EUMYCETES
<b><u>Classe</u></b>	: ASCOMYCETES
<b><u>Sous-classe</u></b>	: HEMIASCOMYETES
<b><u>Ordre</u></b>	: ENDOMYCETALES
<b><u>Famille</u></b>	: SACCHAROMYCETACEAE
<b><u>Sous-famille</u></b>	: SACCHAROMYCETOIDEA
<b><u>Genre</u></b>	: <i>Saccharomyces</i>
<b><u>Espèce</u></b>	: <i>cerevisiae</i>

**6. DISTILLATION**

La distillation est un procédé de séparation des constituants d'un mélange par ébullition. C'est un procédé de séparation de mélange de substances liquides dont les températures d'ébullition sont différentes. Elle permet de séparer les constituants d'un mélange homogène sous l'effet de la chaleur ou d'une faible pression ; les substances se vaporisent successivement et la vapeur obtenue est liquéfiée pour donner le distillat qui est l'alcool et plus précisément le bioéthanol.

# MATERIELS ET METHODES

## MATERIELS D'ETUDES

Le matériel d'étude utilisé est le manioc. Le manioc est une plante exigeante car il s'adapte à tout type de sol et à tout type de climat. Les tubercules de manioc secs vont être transformés en farine de manioc.

### 1.1 CHOIX DE L'ECHANTILLON

Le manioc a été choisi vu sa haute teneur en amidon et vu aussi la qualité de son amidon. L'amidon de manioc est connu pour sa viscosité, ceci le rend approprié pour des applications industrielles.

### 1.2 PREPARATION DE L'ECHANTILLON

La préparation de l'échantillon se base sur le broyage des tubercules de manioc secs pour avoir des farines de manioc. Ces farines seront utilisées lors des expériences au laboratoire et au niveau artisanal.

### 1.3 EXTRACTION DE L'AMIDON

L'extraction de l'amidon se fait selon la méthode d'extraction humide inspirée par la méthode de [BANKS](#) et [GREENWOOD \(1975\)](#).

L'opération comporte plusieurs étapes qui sont détaillées dans les paragraphes suivants. Dans un premier temps, les tubercules de manioc préalablement épluchés sont broyés ; 25g de farine ainsi obtenue sont trempées dans l'eau pendant 15min, puis décantées et filtrées. Le filtrat obtenu est centrifugé pendant 15mn à 4000tours/min. Le culot recueilli est mis dans le séchoir pendant 3jours. Les grains d'amidon sont obtenus par tamisage des produits recueillis et séchés ; on a utilisé un tamis de petite maille (0,5mm de diamètre).

## **1. AMIDON**

### **2.1 DETERMINATION DE LA TENEUR EN AMIDON ; EN AMYLOSE ET EN AMYLOPECTINE**

Les différentes étapes à suivre pour déterminer la teneur en amylose et en amylopectine et aussi la teneur en amidon des farines de manioc sont détaillées dans les paragraphes ci-dessous.

### **2.1.1 LA METHODE POLARIMETRIQUE**

L'amidon est dispersé par traitement à chaud avec de l'HCl dilué. Après défécation et filtration, le pouvoir rotatoire de la solution est mesuré au polarimètre. Le même traitement est effectué sur l'extrait éthanolique à 40% afin d'éliminer les glucides solubles susceptibles d'interférer en polarimétrie, c'est la méthode d'EWERS. La différence obtenue entre les 2 mesures polarimétriques multipliée par un facteur spécifique de l'origine botanique de l'amidon conduit à la teneur en amidon de l'échantillon.

### **2.1.2 DETERMINATION DU POUVOIR ROTATOIRE P**

Dans une fiole jaugée de 100ml, 0,5g de farine est mélangée avec 50ml d'HCl 1,128%. Le tout est mis dans un bain-marie bouillant, avec agitation pendant 3mn pour éviter la formation d'agglomérats. Après 15min, 30ml d'eau froide, 2ml de solution de CARREZ I et 2ml de solution CARREZ II sont successivement ajoutées. Le volume est ajusté à 100ml par l'eau distillée puis filtré. Le pouvoir rotatoire P est mesuré au polarimètre de LAUVET.

### **2.1.3 DETERMINATION DE POUVOIR ROTATOIRE P'**

Une prise d'essai de 1g est mélangée avec 40ml d'éthanol 40%. Le mélange est ensuite agité énergiquement toutes les 10mn à la température ambiante pendant 1heure. Le volume est complété à 50ml avec de l'éthanol à 40%, puis homogénéisé et filtré. Le filtrat obtenu est additionné avec 2,5ml d'HCl à 25%. Le mélange est de nouveau agité vigoureusement puis chauffé à reflux dans un bain-marie bouillant. Après 15min exactement, la fiole est retirée du bain et refroidie sous un courant d'eau froide jusqu'à 20°C. Pour déféquer les protéines, 2ml de solution de Carrez I et 2ml de Carrez II sont ajoutées. Le volume est ensuite complété à 100ml avec de l'eau distillée. Le mélange est homogénéisé, filtré et son pouvoir rotatoire est mesuré.

L'amidon (A) en g pour 100g de MB est obtenu à partir de la formule suivante :

$$A\% = \frac{(P - P') * 100 * 100}{[\alpha]_{20^{\circ}C}^d * B * 4}$$

P : pouvoir rotatoire pour les sucres totaux

P' : pouvoir rotatoire pour les sucres simples

$[\alpha]_{20^{\circ}C}^d$  : 180° pour l'amidon pur

B : masse en g de la prise d'essai

4 : longueur en dm du tube polarimètre

## **2.2 DOSAGE DE L'AMYLOSE**

Par comparaison à une courbe étalon préparée au préalable, la teneur en amylose est déduite par la lecture de la densité optique à 620nm sur une prise d'essai mise en suspension dans une solution de NaOH en présence d'une solution d'iode. L'amylose forme avec l'iode une coloration bleue dont l'intensité dépend de la quantité d'amylose utilisé.

### **2.2.1 PRÉPARATION DE LA PRISE D'ESSAI**

. 100mg de farine de manioc sont conditionnées dans une fiole jaugée de 100ml : 1ml d'éthanol et 9ml de NaOH à 1M y sont ajoutés. La préparation est chauffée au bain-marie bouillant pendant 10min, puis laissée se refroidir à la température ambiante. Puis le volume est ajusté à 100ml avec de l'eau distillée. Le tout est homogénéisé vigoureusement.

La solution mère est préparée comme précédemment mais avec 100mg d'amylose ; 1ml de cette suspension contient 1mg d'amylose suivant la préparation.

### **2.2.2 PRÉPARATION DE LA GAMME ETALON**

A partir de la solution mère, une gamme de concentration de suspension étalon est préparée en utilisant une solution de NaOH à 0,09M suivant les indications du tableau suivant.

Tableau 3 : Préparation de la gamme de concentration en amylose

<b>Amylose (%)</b>	<b>Suspension Amylose (ml)</b>	<b>NaOH 0,09 M</b>
0	0	20
10	2	18
20	4	16
25	5	15
30	6	14

Pour cela, 5ml de chaque concentration sont introduites dans une fiole jaugée de 100ml contenant 50ml d'eau distillée ; 1ml d'acide acétique (CH<sub>3</sub>COOH) et 2ml de la solution

d'iode y sont également ajoutés. Le contenu de la fiole est ramené à 100ml avec de l'eau distillée en agitant le tout. La coloration est développée après un repos de 20min à l'obscurité. La densité optique est ensuite lue au spectrophotomètre visible avec une longueur d'onde de 620nm.

La courbe d'étalonnage est tracée en portant l'absorbance en fonction de la teneur en amylose exprimée en pourcentage de la matière sèche.

La teneur en amylose des essais est lue directement. L'analyse a été faite en double. La moyenne arithmétique des deux déterminations est utilisée comme résultat

### **2.2.3 PREPARATION DE L'ESSAI A BLANC**

L'essai à blanc a été effectué parallèlement suivant le même mode opératoire, en utilisant les mêmes quantités de tous les réactifs, mais en utilisant 5ml de solution d'hydroxyde de sodium à 0,09mol/l à la place de la solution d'essai ou de la solution étalon.

### **2.3 DOSAGE DE L'AMYLOPECTINE**

La teneur en amylopectine est déduite par la différence entre la teneur en amidon et celle de l'amylose.

$$\%Amylopectine = 100\% - \%Amylose$$

## 2. DIAGRAMME DE FABRICATION DU BIOETHANOL

Le procédé de fabrication du bioéthanol est résumé dans le diagramme suivant.

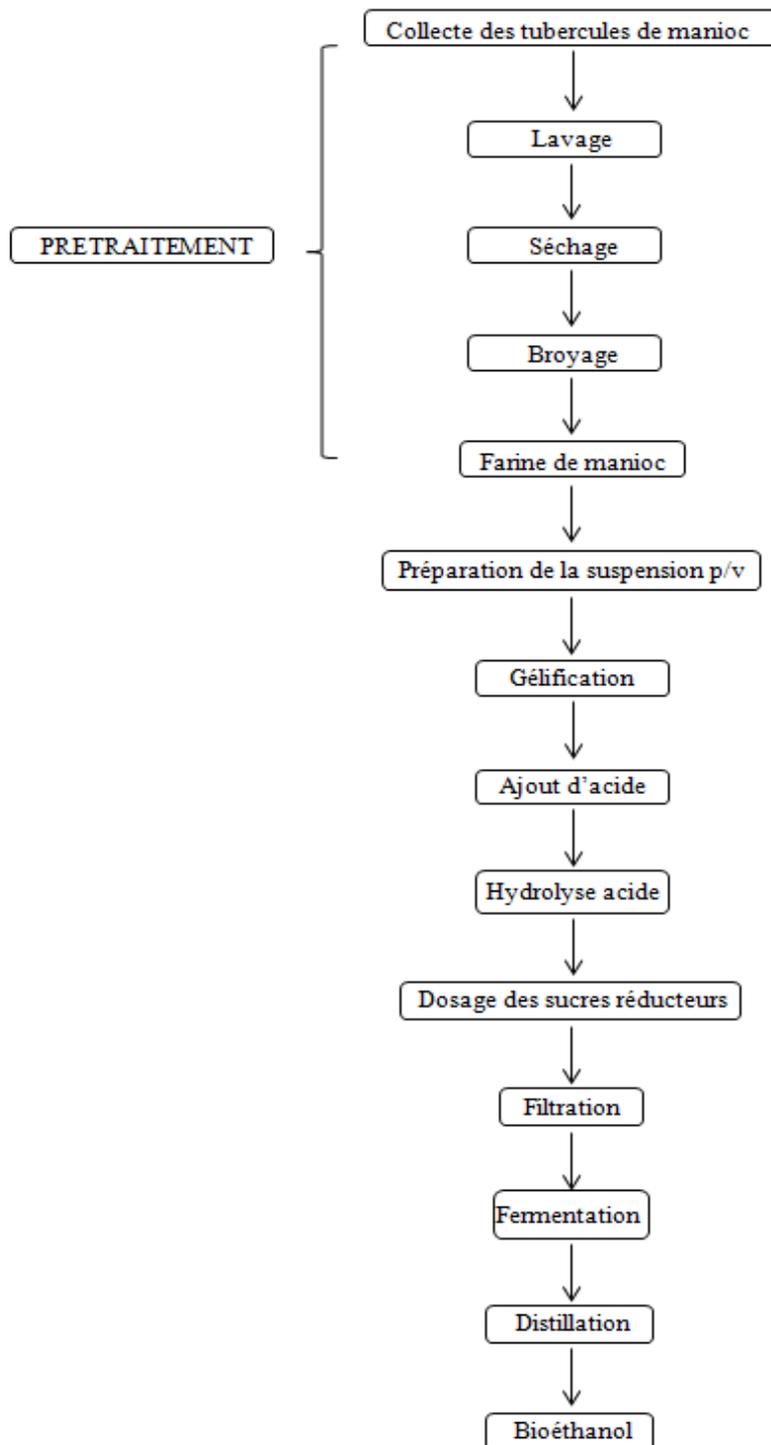


Figure 10 : Diagramme général de la fabrication du bioéthanol

### **3. PREPARATION DU GEL DE MANIOC**

50g de farine sont mélangés avec 700ml ou 800ml d'eau dans des proportions P/V 9 ou 10%. Les analyses ultérieures sont faites ensuite sur la substance gélifiée.

#### ○ PRINCIPE

La gélification est un traitement hydrothermique au cours duquel sous l'effet de chauffage, les granules d'amidon subissent un gonflement qui se poursuit jusqu'à l'éclatement puis à la dispersion complète de molécules. Cette dispersion est responsable du développement de la texture du gel (MALUMBA, *et al.*, 2009)

#### ○ MATERIELS

- Farine de manioc
- Eau
- Balance de précision
- Agitateur
- Bain-marie à 85°C

#### ○ MODE OPERATOIRE

La gélification est nécessaire pour permettre l'éclatement des grains d'amidon et afin de faciliter la liquéfaction et la saccharification. 50 grammes de farine de manioc sont dilués dans 700ml ou 800ml d'eau selon la suspension. Ce mélange est porté au bain-marie à 85°C pendant une heure pour faire gonfler et éclater les grains d'amidon. La gélification est arrêtée lorsqu'on obtient un gel assez visqueux.

### **4. HYDROLYSE CHIMIQUE**

Pendant l'hydrolyse, plusieurs essais ont été réalisés en variant les paramètres suivants : le pH, la température, la suspension de farine de manioc et d'eau (P/V) et la durée d'hydrolyse. A chaque essai un paramètre est varié et le reste est constant. Par exemple le pH est variable tandis que la température, la durée d'hydrolyse et la suspension (P/V) sont invariables. Quatre différents tests ont été réalisés en variant un à un ces paramètres d'hydrolyse et en fixant les paramètres non variés.

a. **MODES OPERATOIRES DES HYDROLYSES AVEC LA VARIATION DE CES PARAMETRES**

**5.1.1Hydrolyse avec l'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et l'HCl, avec une suspension (P/V) variable 9 et 10%**

Deux suspensions ont été testées ; une suspension de 9% avec 50g de farine de manioc et 700ml d'eau ; une suspension de 10% avec 50g de farine de manioc et 800ml d'eau. Le pH du gel de manioc est ramené à 2 par le rajout d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>ou d'HCl. L'hydrolyse est réalisée à 100°C pendant 3heures. La suspension (P/V) 9% sera un paramètre fixé ; il reste à varier le pH, la durée et la température.

**5.1.2Hydrolyse avec un pH variable.**

Deux pH ont été testés : le pH 1,8 et 2. Le gel de manioc est acidifié par l'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>ou l'HCl pour ramener le pH à 1,8 et 2. L'hydrolyse est effectuée pendant 3heures à 100°C et avec une suspension (P/V) 9%. Il reste à varier la durée et la température.

**5.1.3Hydrolyse avec l'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et l'HCl fait en fonction de la durée.**

Trois durées ont été testées : 3heures, 4heures et 5heures. Le pH du gel de manioc est ramené à 2 par l'acidification avec l'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>ou l'HCl. Ensuite, une hydrolyse est réalisée à 100°C ; avec une suspension (P/V) 9%, durant trois heures ; ensuite quatre heures et finalement cinq heures.

**5.1.4Hydrolyse faite avec des températures variées 80°C, 90°C et 100°C.**

Comme tous les autres tests, le gel de manioc est acidifié par les 2 acides pour avoir un pH égal à 2. Les mêmes conditions ont été reproduites sauf la température qui est variée à 80°C, 90°C et 100°C.

**5. HYDROLYSE ACIDE REALISEE A MOYENNE ECHELLE OU IN VIVO.**

En laboratoire, l'essai qui a donné le meilleur résultat a été reproduit à grande échelle. Deux tests avec une quantité moyenne d'échantillon ont été menés : c'est une hydrolyse de cinq heures avec les acides H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl avec une suspension (P/V) 9% et à pH = 2 ; à 100°C.

## ○ MODE OPERATOIRE

Dans une marmite, 400g de farine de manioc et 6,4l d'eau ont été mélangées et gélifiées. Après, le gel de manioc a été acidifié par 6,5ml d'acide sulfurique ou 7ml d'acide chlorhydrique pour avoir un pH égal à 2. Une augmentation de température jusqu'à 100°C est indispensable pour la réalisation de l'hydrolyse acide qui durera 5 heures.

L'agitation de cette hydrolyse a été faite avec une grande cuillère ; l'agitation a été effectuée toutes les 15 minutes. L'évolution du degré Brix prise au réfractomètre a été vérifiée toutes les heures.

## **6. DOSAGE DE L'HYDROLYSAT PAR REFRACTOMETRIE**

Le principe de cette mesure est basé sur la réfraction de la lumière créée par la nature et la concentration (par exemple en sucre) des solutés. Ainsi un réfractomètre mesure indirectement la densité des liquides. L'unité de mesure degré Brix (°B) doit son nom à son inventeur Adolf F. Brix. 1 °B correspond à l'indice de réfraction d'une solution de saccharose à 1% dans l'eau. Différentes sortes de sucres se forment pendant l'hydrolyse. La quantité de ces sucres sera déterminée par la mesure de ses indices de réfraction au réfractomètre.

### Matériel :

Réfractomètre O.P.L.

Centrifugeuse et ses cuves.

## **MODE OPERATOIRE**

Après avoir centrifugé 2ml d'hydrolysate, quelques gouttes de ce culot sont déposées sur le prisme ; la lecture de l'indice de réfraction se fait directement et une ligne de partage lumineuse s'affiche lors de la visualisation sur le guide oculaire.

## **7. DOSAGE DES SUCRES REDUCTEURS**

L'utilité de ce dosage est de vérifier l'efficacité de l'hydrolyse. La concentration des sucres fermentescibles formés pendant l'hydrolyse est déterminée par la méthode colorimétrique au dinitrosalicylate de sodium (D.N.S).

○ SOLUTIONS

- Solution de D-Glucose à 2g/L : 50ml
- D.N.S : 100ml
- Invertase : 5ml
- Eau distillée : 50ml
- Solution à doser : 0, 1ml

○ MATERIELS

- Spectrophotomètre et ses cuves
- Tubes à essai
- Pipettes
- Centrifugeuse
- Bain-marie FISHER BIOBLOCK SCIENTIFIK
- Bain-glacée

○ PRINCIPE

La technique du D.N.S est un moyen de détermination de la teneur en sucres réducteurs libres présents dans la solution à doser. A chaud et en présence de sucres réducteurs : le D.N.S développe un produit réduit de couleur rouge brune.

○ MODE OPERATOIRE

**7.1 Préparation de la gamme étalon**

Six tubes à essais ont été séchés dans une étuve. Dans le tube 1 :10ml d'eau distillée et 1ml de DNS ont été versés ; dans le tube 2 : 1ml de glucose à 2g/L, 9ml d'eau distillée et 1 ml de DNS ; dans le tube 3 : 2ml de glucose à 2g/L, 8ml d'eau distillée et 1ml de DNS ; dans le tube 4 : 3ml de glucose à 2g/L, 7ml d'eau distillée et 1ml de DNS ; dans le tube 5 : 4ml de glucose à 2g/L, 6ml d'eau distillée et 1ml de DNS ; dans le tube 6 : 5ml de glucose à 2g/L, 5ml d'eau distillée et 1ml de DNS. Ensuite ces tubes ont été placés au bain-marie à 100°C pendant 5minutes. Le volume a été complété à 10ml d'eau distillée et la lecture de la densité optique à 540nm a été faite. La préparation de cette gamme étalon est bien détaillée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Etablissement de la gamme étalon du D.N.S

Tubes	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>
Glucose 2g/L (ml)	0	1	2	3	4	5
Eau distillée (10 <sup>-1</sup> ml)	10	9	8	7	6	5
DNS (ml)	1	1	1	1	1	1
Bain marie à 100°C pendant 5minutes						
Eau distillée(ml)	10	10	10	10	10	10
Lecture de la densité optique à 540nm						

### **7.2PREPARATION DE LA SOLUTION A DOSER**

Durant un intervalle d'une heure, 2ml d'hydrolysats ont été prélevés pour être centrifugés à 8000 tours/min pendant 5 minutes ; 0,1ml de ce surnageant est ensuite mélangé avec 0,1ml d'invertase ; le mélange ayant été laissé au repos pendant 10 minutes pour la réaction enzymatique. 1ml de D.N.S et 0,8ml d'eau distillée ont été rajoutés à ce mélange. Ce dernier a été mis dans un bain-marie à 100°C pendant 5 minutes pour le développement de la coloration. Ensuite, l'échantillon a été mis dans un bain glacé pour arrêter la réaction puis 10 ml d'eau distillée y ont été ajoutées. La lecture au spectrophotomètre a été effectuée. Ce mode opératoire est résumé et présenté dans le tableau ci-dessous

Tableau 5 :Préparation des solutions à doser

Solution à doser	0,1ml
Invertase	0,1ml
Attendre 10minutes pour la réaction enzymatique	
Eau distillée	0,8ml
DNS	1ml
Bain marie à 100°C pendant 5minutes	
Refroidissement dans un bain glacé	
Eau distillée	10ml
Lecture au spectrophotomètre	

## 8. LA REVIVIFICATION DES LEVURES

La revivification des levures sert à adapter ces dernières au milieu de culture, à les activer pour qu'elles puissent transformer les sucres contenus dans le moût en bioéthanol et en gaz carbonique. Cette revivification sert à produire la biomasse et à adapter les levures au milieu de culture c'est-à-dire redonner de la force et de vivacité et de productivité aux levures ou revivifier les levures.

### ○ MATERIELS

- Levure pour la fermentation : *Saccharomyces cerevisiae* :3,5g et 4g
- Sucre : 3,5g et 4g
- Eau : 70ml et 80ml
- Boîte de Pétri
- Etuve
- Balance de précision

### ○ METHODE

Pour la suspension de 9% : 3,5g de levure et 3,5g de sucre ont été pesés et mis dans 70ml d'eau. Pour la suspension de 10% : 4g de levure et 4g de sucre ont été pesés et mis dans 80ml d'eau. La solution sucrée sera donc le milieu de culture de la levure pendant sa revivification. La solution sucrée a été déposée dans une boîte de Pétri et la levure a été versée

dans cette solution sucrée. La boîte de Pétri contenant la levure à revivifier a été ensuite placée dans une étuve à 27°C pendant 1h 30min jusqu'à ce que la multiplication de la levure s'arrête.

## **9. FERMENTATION**

La fermentation transforme les sucres présents dans l'hydrolysat en alcool (éthanol). Les levures revivifiées assurent cette transformation.

### **9.1 LA FERMENTATION**

La fermentation est un processus biologique se déroulant dans un milieu privé d'oxygène : cas d'une fermentation anaérobie mais la fermentation aérobie existe aussi. C'est une décomposition d'une substance sous l'influence de micro-organisme. Dans notre cas la levure convertit le sucre en alcool et en dioxyde de carbone et se nourrissant d'une série de sucres complexes existant dans les substances à fermenter.

#### ○ MATERIELS

- Bouteille fermée hermétiquement
- Etuve
- Filtre
- pH-mètre
- Densimètre

#### ○ REACTIF

Soude à 40% : 10ml

#### ○ PRINCIPE

Lors de la fermentation, la levure revivifiée a pour rôle de transformer les sucres présents dans l'hydrolysat en alcool, précisément en éthanol dans un milieu privé d'air.

#### ○ MODE OPERATOIRE

A la fin de l'hydrolyse, l'hydrolysat a été filtré et refroidi. Après la filtration, le pH de l'hydrolysat filtré a été neutralisé avec de la soude à 40%. Le pH de l'hydrolysat a été vérifié

par un pH-mètre (le pH de fermentation est égal à 4,5). Dès que le pH de l'hydrolysat a été neutralisé et que l'hydrolysat a été refroidi à 25°C, la levure revivifiée est tout de suite mélangée à l'hydrolysat. L'ensemble formé par l'hydrolysat et la levure revivifiée a été mis dans une bouteille fermée hermétiquement ; cette bouteille a été placée dans une étuve réglée à 25°C -30°C pour la fermentation.

**REMARQUE :** Pendant la fermentation, la variation de la densité a été contrôlée après 24 heures de fermentation. La fermentation est terminée lorsque la densité reste constante.

## **10. DISTILLATION**

Les différentes étapes à suivre pendant la distillation sont détaillées dans les paragraphes ci-dessous.

### ○ PRINCIPE

La distillation est une technique de séparation et de purification de substance chimique liquide. Le liquide placé dans le ballon à distiller est porté à ébullition. Les vapeurs sont ensuite condensées à l'aide d'un réfrigérant et forment le distillat qui va être récupéré dans un récipient récepteur.

### ○ MATERIELS

- Chauffe ballon
- Ballon
- Colonne vigreux
- Réfrigérant descendant
- Erlenmeyer
- Alcomètre.

### ○ MODE OPERATOIRE

A la fin de la fermentation, 200ml de la solution ont été versées dans un ballon contenant 1800ml d'eau. Ce ballon est accompagné d'une chauffe-ballon pour le chauffer et aussi pour la distillation. Comme 200ml de solution sont distillées dans le ballon donc 200ml d'éthanol seront aussi recueillis dans le récipient récepteur. Le degré alcoolique du distillat récupéré est mesuré par un alcomètre. Cette mesure est faite à une température de 20°C. Le degré alcoolique a été alors obtenu par lecture directe de l'alcomètre plongé dans le distillat.

# RESULTATS ET INTERPRÉTATIONS

## 1. LA TENEUR EN AMIDON

La moyenne des pouvoirs rotatoires P et P' figure dans le tableau suivant ainsi que le mode de calcul de la teneur en amidon de l'échantillon.

Tableau 6 : Pouvoirs rotatoires

P'	3,02	2,98	3,06	Moyenne = 3,02
P	0,32	0,34	0,30	Moyenne = 0,34

P et P' : Valeurs données par le polarimètre

$$A\% = \frac{P \cdot 100 \cdot 100}{[\alpha]_{20}^d \cdot c \cdot B \cdot 4} - \frac{P' \cdot 100 \cdot 100}{[\alpha]_{20}^d \cdot c \cdot B \cdot 4}$$

$$A\% = \frac{3,02 \cdot 100 \cdot 100}{180 \cdot 0,5 \cdot 4} - \frac{0,32 \cdot 100 \cdot 100}{180 \cdot 1 \cdot 4} = 79,43\%$$

### ○ INTERPRETATION

La teneur en amidon de la farine de manioc est de 79,43%, cette valeur est proche de celle rapportée par [TURANTSINZE,2011](#) dans la composition des tubercules de manioc épluchés.

## 2. TENEUR EN L'AMYLOSE ET EN L'AMYLOPECTINE

Pour la détermination de la teneur en amylose de la farine de manioc, une gamme de concentration d'amylose a été testée : 0% ,10%, 20%, 25%, 30%. Les densités optiques correspondantes ont été mesurées et sont détaillées dans le tableau suivant.

Tableau 7 : Densité optique de la gamme de concentration en amylose

Concentration en amylose (%)	D.O à 620nm
0	0,020
10	0,156
20	0,335
25	0,373
30	0,430

La densité optique de l'échantillon est égale à 0,355. Après avoir projeté la valeur de 0,355 sur la gamme de concentration, on trouve une correspondance de 23,79% d'amylose. La teneur en amylopectine est déduite par la différence entre la teneur en amidon et celle de l'amylose. La concentration en amylopectine est égale à 76,21%

○ INTERPRETATION

L'amidon de manioc est composé de 23,79% d'amylose et de 76,21% d'amylopectine pour 100g de matière sèche ; cette valeur est proche de celle rapportée par [CHEFTEL et CHEFTEL, 1977](#)

### **3. HYDROLYSE CHIMIQUE**

#### **3.1. RESULTATS DES HYDROLYSES ACIDES IN VITRO**

Les résultats des différents essais d'hydrolyse effectués en variant un de ces paramètres : pH ; durée ; température et suspension (poids /volume) sont présentés dans les tableaux suivants. Deux types d'acides ont été utilisés pendant l'hydrolyse : l'acide sulfurique et l'acide chlorhydrique.

Tableau 8: Evolution des sucres réducteurs formés en fonction de la suspension (P /V)

Suspension P/V	Durée	pH	Température	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		HCl	
				Sucres réducteurs	° BRIX	Sucres réducteurs	° BRIX
9%	1h	2	100°C	69,81 g/l	7	48,74 g/l	4
10%	1h	2	100°C	43,45 g/l	5	35,95 g/l	3
9%	2h	2	100°C	74,83 g/l	7	54,47 g/l	5
10%	2h	2	100°C	47,38 g/l	5	38,22 g/l	3
9%	3h	2	100°C	78,21 g/l	7	57,62 g/l	5
10%	3h	2	100°C	50,76 g/l	5	41,46g/l	4

La concentration en substrat utilisée pendant cette expérience a été similaire à celle utilisée par [EUIS H. \*et al.\*, 2014](#).

Ce tableau résume l'hydrolyse effectuée à différentes concentrations de suspension de farine de manioc et d'eau (P/V) : plus de sucres réducteurs se forment lorsque la suspension contient plus d'amidon ; moins de sucres réducteurs se forment quand la suspension est diluée. L'indice de réfraction est stable pendant les 3heures d'hydrolyse pour l'hydrolyse avec l'acide sulfurique, ce qui n'est pas le cas des indices de réfraction de l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique. Cet indice ne se stabilise qu'après 2 ou 3heures de réaction effectuée respectivement pour l'hydrolyse avec l'acide sulfurique et pour l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique.

Tableau 9 : Evolution des sucres réducteurs en fonction du pH pendant une expérience de 3heures

pH	Durée	Température	Suspension P/V	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		HCl	
				Sucres réducteurs	° BRIX	Sucres réducteurs	° BRIX
2	1h	100°C	9%	67,45g/l	6	40,38g/l	4
1,8	1h	100°C	9%	66,54g/l	6	40g/l	5
2	2h	100°C	9%	74,62g/l	7	49,71g/l	5
1,8	2h	100°C	9%	72,88g/l	6	46,86g/l	5
2	3h	100°C	9%	82,12g/l	7	53,43g/l	5
1,8	3h	100°C	9%	80,54g/l	6	52,54g/l	5

Ce tableau montre le résultat de l'hydrolyse à 100°C pendant 3heures avec une suspension (P/V) 9% et à pH= 1,8 et à pH= 2 : le choix de l'utilisation de ces pH a été adopté par [EUIS H. et al.,2014](#). La concentration des sucres réducteurs formés augmenteprogressivement durant l'hydrolyse. Les sucres réducteurs formés lors de l'hydrolyse à pH=2 sont supérieurs aux sucres réducteurs formés lors de l'hydrolyse à pH=1,8 ; de même que pour l'indice de réfraction. Ceci signifie que le pH= 2 convient mieux à l'hydrolyse chimique que le pH= 1,8 ; vu la supériorité de la concentration des sucres réducteurs formés avec l'hydrolyse à pH 2. Le pH 2 sera donc un paramètre fixé pour les suites des expériences.

Tableau 10 : Evolution des sucres réducteurs en fonction de la durée

Durée	pH	Température	Suspension P/V	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		HCl	
				Sucres réducteurs	° BRIX	Sucres réducteurs	° BRIX
1h	2	100°C	9%	69,81g/l	7	48,74g/l	4
2h	2	100°C	9%	74,83g/l	7	54,74g/l	5
3h	2	100°C	9%	78,21g/l	7	57,64g/l	5
4h	2	100°C	9%	85,67g/l	7	61,58g/l	6
5h	2	100°C	9%	92,54g/l	8	68,96 g/l	6

INNOCENT et *al.*, 2015 ont réalisé une hydrolyse de 5 heures. Plus la durée de l'hydrolyse est prolongée, plus la concentration des sucres réducteurs formés augmente au fil du temps aussi bien que pour l'hydrolyse avec l'acide sulfurique qu'avec l'acide chlorhydrique. Ceci signifie que la formation des sucres réducteurs dépend de la durée de l'hydrolyse.

Tableau 11 : Evolution des sucres réducteurs en fonction de la température

Température	Durée	pH	Suspension P/V	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		HCl	
				Sucres réducteurs	° BRIX	Sucres réducteurs	° BRIX
80°C	1h	2	9%	58,46 g/l	5	30,87g/l	4
90°C	1h	2	9%	66,05 g/l	7	40,31 g/l	4
100°C	1h	2	9%	69,81 g/l	7	48,74g/l	4
80°C	2h	2	9%	61,34 g/l	5	34,64g/l	4
90°C	2h	2	9%	71,58 g/l	7	45,36g/l	4
100°C	2h	2	9%	74,83 g/l	7	54,74g/l	5
80°C	3h	2	9%	65,69 g/l	6	36,57g/l	4
90°C	3h	2	9%	76,33 g/l	7	48,15 g/l	5
100°C	3h	2	9%	78,21 g/l	7	57,64g/l	5
80°C	4h	2	9%	73,87 g/l	6	39,82g/l	4
90°C	4h	2	9%	83,67 g/l	8	52,67g/l	5
100°C	4h	2	9%	85,67 g/l	7	61,58g/l	6
80°C	5h	2	9%	75,25 g/l	6	43,95g/l	4
90°C	5h	2	9%	85,45 g/l	8	55,94g/l	5
100°C	5h	2	9%	92,54 g/l	8	68,96g/l	6

Pendant l'hydrolyse de 5heures, la concentration des sucres réducteurs formés est de 75,25g/l à 80°C ; 85,45g/l de sucres réducteurs se sont formés à 90°C et 92,54g/l à 100°C. D'après ces différents essais d'hydrolyse effectués en fonction de la température, on peut en conclure qu'une augmentation de la température durant l'hydrolyse a comme conséquence une réaction plus élevée. L'hydrolyse est stoppée à 100°C car une température trop élevée peut altérer les produits de l'hydrolyse (YESHITILA ; TSIGIE *et al*, 2013). Durant une hydrolyse de 5heures, la concentration des sucres réducteurs formés est de 43,95g/l à 80°C ; 55,94g/l de sucres réducteurs se sont formés à 90°C et 68,96g/l à

100°C. Plus la température s'élève ; plus les sucres réducteurs se forment pour les deux hydrolyses.

Pour l'hydrolyse avec l'acide sulfurique, la concentration de sucres réducteurs maximale formée est de 92,54g/l ; cette concentration est proche de la concentration de 97,7g/l trouvée par [ZHAO-YONG S. et al., 2011](#) lors de la production d'éthanol à partir du bambou par l'hydrolyse avec l'acide sulfurique concentré.

Pour l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique, la concentration maximale de sucres réducteurs formée est de 68,96g/l similaire à la concentration des sucres réducteurs formés de 62g/l lors de l'hydrolyse acide et enzymatique pour récupérer les sucres réducteurs de la bagasse de manioc ([ADENISE L. W. et al., 2002](#))

### **3.2 LES PARAMETRES OPTIMUMS IDENTIFIES**

Les paramètres optimums identifiés sont : le pH = 2 ; la durée d'hydrolyse = 5 heures ; la température = 100°C et la suspension (P/V) 9% et l'utilisation de l'acide sulfurique comme catalyseur. L'acide sulfurique hydrolyse mieux que l'acide chlorhydrique car c'est un diacide qui va être plus fonctionnel face à un monoacide.

Le tableau ci-dessous résume le résultat de l'hydrolyse *in vitro* réunissant les paramètres optimums identifiés

Tableau 12 : Résultats de l'hydrolyse *in vitro* réunissant les paramètres optima identifiés

Durée	pH	Suspension P/V	Température	Sucres réducteurs	° BRIX
1h	2	9%	100°C	69,81g/l	7
2h	2	9%	100°C	74,83g/l	7
3h	2	9%	100°C	78,21g/l	7
4h	2	9%	100°C	85,67g/l	7
5h	2	9%	100°C	92,54g/l	8

### **3.3 RESULTATS DE L'HYDROLYSE ACIDE IN VIVO**

Les paramètres optimums identifiés au laboratoire ont été appliqués *in vivo*. Les mêmes conditions ont été donc reproduites c'est à dire le pH= 2 ; la durée d'hydrolyse = 5 heures ; la température =100°C et la suspension (P/V) 9%.

Deux types d'acides ont été aussi utilisés pour comparer l'efficacité de l'acide sulfurique par rapport à l'acide chlorhydrique. Normalement, l'acide sulfurique hydrolyse mieux l'amidon que l'acide chlorhydrique.

Tableau 13 : Résultat de l'hydrolyse *in vivo* réunissant les paramètres optimums identifiés

Durée	pH	Température	Suspension P/V	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		HCl	
				Sucres réducteurs	° BRIX	Sucres réducteurs	° BRIX
1h	2	100°C	9%	82,45g/l	8	75,54g/l	6
2h	2	100°C	9%	95,73g/l	11	83,72g/l	9
3h	2	100°C	9%	99,16g/l	13	89,68g/l	12
4h	2	100°C	9%	105,27g/l	15	92,57g/l	14
5h	2	100°C	9%	109,84g/l	18	98,63 g/l	16

Tout comme le résultat de l'hydrolyse *in vitro*, le résultat de l'hydrolyse *in vivo* avec l'acide sulfurique est supérieur au résultat de l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique. L'acide sulfurique est un diacide qui peut accélérer la vitesse d'hydrolyse

### **3.4 DIFFERENCES ENTRE LES EXPERIENCES IN VITRO ET IN VIVO**

Les expériences *in vitro* et *in vivo* sont très différentes. Les causes sont multiples à savoir :

- la déperdition de la température : le chauffage au bain-marie utilisé *in vitro* est différent du feu direct *in vivo*.
- l'agitation : une rotation systématique par l'agitateur magnétique au laboratoire diffère de l'agitateur manuel *in vivo*.
- le couvercle de l'hydrolyseur : au laboratoire l'hydrolyseur est fermé hermétiquement ce qui diffère de la grande marmite ouverte à chaque agitation de l'hydrolyse provoquant une perte par évaporation.

la marge d'erreur sur la préparation du gel de manioc lors de la préparation de la suspension.

#### **4. RESULTATS DE FERMENTATION**

Pendant la fermentation, la variation de la densité est contrôlée après chaque 24 heures de fermentation et les restes de sucres non fermentés ou sucres résiduels sont déterminés. La variation de la densité et de la concentration des sucres résiduels des essais effectués avec les paramètres optimums identifiés est donc détaillée dans le tableau ci-dessous.

La concentration des sucres résiduels ou reste de sucres non fermentés est aussi mentionnée dans le tableau ci-dessous.

##### **4.1. RESULTATS DE FERMENTATION DE L'EXPERIENCE IN VITRO**

Tableau 14 : Résultat de la fermentation des expériences in vitro

	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HCl
Jours de fermentation	Densité	Densité
1	1,025	1,020
2	1,019	1,005
3	1,010	1,005
Sucres résiduels	45,69g/l	36,81g/l

Lorsque la fermentation se déroule normalement, la densité décroît visiblement durant les deux premiers jours de fermentation, pour devenir stable au troisième jour (cas de l'expérience avec l'acide chlorhydrique).

Le taux de conversion du sucre en alcool se situe généralement entre 91 et 95 % du rendement attendu (SCIBRAN *et al.*,1993 ;RANDRIAMANANTENA ,2006). Le taux de conversion du sucre en alcool de ces deux expériences est de 49,37% pour l'hydrolyse avec l'acide sulfurique et 53,37% pour l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique.

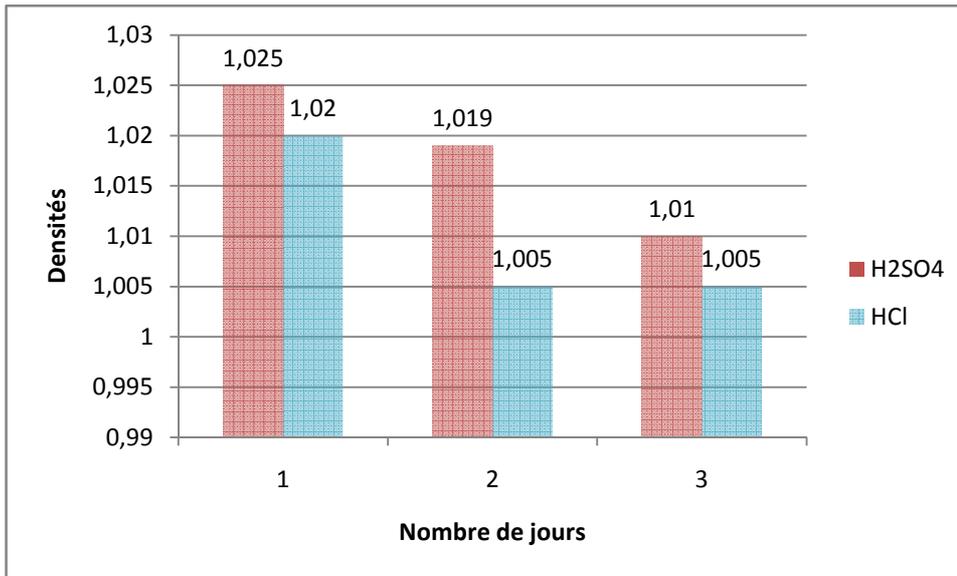


Figure 11 : Variation de la densité durant la fermentation in vitro

Les levures en fermentation fonctionnent bien car l'adaptation des levures en milieu de culture a été déjà achevée durant la revivification des levures. La diminution significative de la densité au deuxième jour de fermentation justifie l'augmentation de la vitesse de la fermentation. Par contre, cette vitesse diminue pour le processus avec l'acide sulfurique et pour l'autre processus, la fermentation s'arrête. Cette baisse d'activité correspond à une diminution régulière de la vitesse de transport des sucres (SALMONet *al.*, 1993). De plus, l'arrêt de la fermentation est caractérisé par une forte mortalité des levures (INSAet *al.*, 1995) d'où la nécessité d'alimenter les levures pendant la fermentation.

#### **4.2. RESULTATS DE FERMENTATION DE L'EXPERIENCE IN VIVO**

Le tableau ci-dessous présente le résultat de l'expérience *in vivo*.

Tableau 15 : Résultat de la fermentation des expériences *in vivo*

	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HCl
Jours de fermentation	Densité	Densité
1	1,040	1,035
2	1,030	1,023
3	1,020	1,018
4	1,010	1,010
5	1,010	1,010
Sucres résiduels	70,25g /l	65,48g/l

La diminution de la densité est observable durant les trois premiers jours de fermentation, pour devenir stable au quatrième jour. La stabilité de la densité indique la fin de la fermentation.

Le taux de conversion du sucre en alcool de ces deux expériences *in vivo* est de 63% pour l'hydrolyse avec l'acide sulfurique et 65% pour l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique.

Le taux de conversion du sucre en alcool des expériences *in vivo* est supérieur au taux de conversion des expériences *in vitro*.

#### **5. RESULTATS DES DISTILLATIONS**

Le degré alcoolique des distillats obtenus est mesuré avec un alcoomètre. Ces résultats figurent dans le tableau suivant

Tableau 16 : Résultat de distillation des tests *in vitro* et *in vivo*

	<i>In vitro</i>		<i>In vivo</i>	
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HCl	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HCl
°GL	3	2	4	3

Le résultat de la distillation de l'expérience avec l' $H_2SO_4$  est supérieur au résultat de la distillation de l'expérience avec l' $HCl$  pour l'expérience *in vitro* et *in vivo*. Cette différence est due par l'efficacité d'un diacide ( $H_2SO_4$ ) par rapport à un monoacide ( $HCl$ ).

Le résultat de la distillation des essais *in vivo* est aussi supérieur au résultat de la distillation des essais *in vitro* : la différence des conditions expérimentales est la cause de tout cela.

## 6. RECAPITULATION DE TOUS LES RESULTATS

Le rendement pratique de bioéthanol, la concentration maximale des sucres réducteurs formés, la concentration des sucres résiduels, le taux de conversion du sucre en alcool et le résultat des distillations de chaque expérience seront présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 17 : Récapitulation

	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>
	$H_2SO_4$	$HCl$	$H_2SO_4$	$HCl$
Rendement pratique du bioéthanol	9,40%	6,26%	12,52%	9,40%
Concentration maximale des sucres réducteurs	92,54g/l	68,96g/l	109,84g/l	98,63g/l
Concentration des sucres résiduels	45,69g/l	36,81g/l	70,25g/l	65,48g/l
taux de conversion du sucre en alcool	49,37%	53,37%	63%	65%
°GL	3	2	4	3

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce présent travail nous a permis de :

Suivre les différentes étapes (hydrolyse, fermentation, distillation) de la production de bioéthanol à partir de la farine de manioc.

Voir de près les conditions de fermentation.

Maîtriser les techniques de distillation et différentes techniques de biologie.

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont permis de connaître l'efficacité de l'acide sulfurique par rapport à l'acide chlorhydrique lors d'une hydrolyse acide ; d'améliorer la production d'éthanol en optimisant l'hydrolyse par la variation de plusieurs paramètres.

A l'avenir, il serait intéressant :

- D'hydrolyser l'amidon pur de manioc au lieu de la farine de manioc, l'hydrolyse de l'amidon pur peut donner un meilleur rendement.
- D'améliorer la fermentation en variant la température et le pH de fermentation car la température a un effet significatif sur la production d'éthanol, et augmenter la concentration de levure utilisée en fermentation.
- D'optimiser en même temps l'hydrolyse et la fermentation pour améliorer la production d'éthanol.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES &  
WEBOGRAPHIES

- 1 - ANGELLIER H. 2005. Nanocristaux d'amidon de maïs cireux pour applications composites. Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier – Grenoble 1 (France). p. 298
  
- 2 - ADRIAN J., POTUS J. & FRANGNE R. (1995). La Science Alimentaire de A à Z. 2<sup>e</sup> édition. *Lavoisier, Technique et Documentation*. Paris France.p.477
  
- 3 - ADENISE L. W., SAUL N., CARLOS R., ASHOK P. Brazilian archives of biology and technology, vol. 45, September 2002. p.393- 400
  
- 4 - ACCT – STEC, 1981, Le manioc: sa culture et sa transformation Paris; p.64
  
- 5 - BANKS, W. α GREENWOOD, C.T., 1975. Starch and starch Components. Edinburgh University Press: Edinburgh, England. p.270 – 273
  
- 6 - BEMILLER J.N. 1965. Acid hydrolysis and other lytic reactions of starch. In: Starch: Chemistry and Technology, R. L. Whistler, New York, Academic Press, 1: p.495-516
  
- 7 - BULEON A., COLONNA P. & LELOUP V., 1990. Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. Actualités des industries alimentaires et agro-industrielles ; Institut National de la Recherche Agronomique, Nantes - France, 6 : p.515-532.
  
- 8 - BULEON, A., COLONNA, P., PLANCHOT, V., Ball, S. 1998a Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal Biological Macromolecules* 23(2), 85 p.112.
  
- 9 - BULEON A., 2001. Caractéristiques structurales des amidons. Formation Adria des 21 et 22 mars 2001 à Nantes (France).p.50

- 10 - CEBALLOS, H., 2006 : Variation in crudeprotein content in cassava (ManihotesculentaCrantz) roots, J. Food Compos. Anal., 19, p.589-593.
- 11- CECIL J. E. Transformation de l'amidon à petite et moyenne échelle. FAO : Rome, 1993 (bulletin desservices agricoles de la FAO). p.12.
- 12 - COSTE R. et SILVESTRE P. Manuel pratique de la culture de manioc. Paris Maison neuve et Larose 1987 p.119.
- 13- CHEFTEL J.C. et CHEFTEL 1977 Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments vol. 1 Technique et documentation – Lavoisier, p.130-141.
- 14 - DEMEYER, THOMAS D., 1981 La conversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies p.58.
- 15 - DONOVAN, J. W. 1979Phase transitions of the starch-water system. *Biopolymes*.18, p.263–275.
- 16 - EUIS H., SHUNTARO T., JUN Math. Fund. Sci., Vol. 46, No. 2, 2014, p.125-139
- 17 - HORTON, HOLLAND B. ,1994-"Principes de Biochimie"- Ed. DeBoeck Universités. p.61
- 18 - ISO, 1987. Norme ISO 6647, 1er éd. Suisse, p.4

19 - INNOCENT Y., GANDEHOJ. ,TCHEKESSI C., Conception d'un distilleur-rectificateur pour la production semi-industrielle de l'éthanol, International Journal of Innovation and AppliedStudies ISSN 2028-9324 Vol. 11 No. 3 Jun. 2015, p.804-815

20 - INSA G., ANSELM P., EMRODE E. (1995) Alcoholic fermentation under enological conditions. Use of a combination of data analysis and neural networks to predict sluggish and stuck fermentations. Bioprocess Engineering 13: p.171-176

21- LELOUP V., COLONNA P. & BULEON A., 1991. Influence of amylose-amylopectin ratio on gel properties. J. Cereal Sci. 13: p.1-13.

22 - LAURA J. Martin WebmedMedical Reference Mai 2016 p.35

23 - MALUMBA P., JANAS S. , DOROANNE, 2009 de la température sur les propriétés fonctionnelles des granules d'amidon. Carbohydr.Polym. 75, p.299-306

24 - MILES M.J., MORRIS C.F. & RING S.G., 1984.Some recent observations on the retrogradation of amylose. *Carbohydrate Polymers*, 4: p.73-77.

25- MOLL, 1991 Bières et coolers p.65

26 - NEGRO, M. 1991. DegradacionEnzimatica de la Biomasa de Onopordumnervosum bois. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia.p.41

27 - OKE O. L. Chemical studies one some nigerian foodstuffs (gari) Nature 1966. 212 (5066) p.1055- 1056

28 - OLIVA, D. 2003. Efecto de los Productos de Degradacion Originados en l'Explosion a Vapor de Biomasa de Chopo sobre *Kluyveromyces marxianus*. Madrid : Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biologicas, Département de Microbiologie.

29 - OLIVIER, M.J. (2009). Chimie de l'environnement. 6<sup>ème</sup> édition, Québec, Les productions Jacques Bernier, p.360

30 - RASAMY 2015. Les enjeux de la production d'éthanol combustible à Madagascar.

31 - ROMANO, S, GONZALES, E, & LABORDE, M. 2005. Combustibles Alternativos. Nuevas Tecnologias para la obtencion de Biocombustibles. Buenos Aires: Ediciones Cooperativas.

32 - RANDRIAMANANTENA Andriamasina, 2006 Valorisation de l'igname malgache *dioscoreasansibarensis* variete « veoveo»: hydrolyse enzymatique de l'amidon et fermentation alcoolique par la levure *saccharomyces cerevisiae*

33 - RAMARJAONA M. P., 2001, Culture et production du manioc à Madagascar, Mémoire en vue de l'obtention du CAPEN

34 - RANAIVOSON Roger, 2010; Céréales ; 5<sup>ème</sup> année Département IAA, ESSA

35 - SALMON JM., ALAN B., DAVID R., (1993) Sugar transport inhibition and apparent loss of activity in *Saccharomyces cerevisiae* as a major factor of enological fermentations. American Journal of Enology and Viticulture 44(1): p.56-64

36 - SCRIBAN R. Biotechnologie ; 4<sup>ème</sup> édition. Paris: Technique et documentation – Lavoisier, 1993; p. 904

37 - SANKT Augustin ; fiche complète (Maltose) CENSST 2016

38– TURANTSIZE J. , Unité de fabrication de manioc <http://www.africa-do-business.com>

39 - YITZHAK MARCUS, The Properties of Solvents, vol. 4, John Wiley & Sons Ltd, England, 239 p. (ISBN 0-471-98369-1). 1999m. p.36

40 - YESHITILA T., CHUG HSAN W. ,LIEN HUONG H.Bioresource Technology 145 (2013) p.210–216

41 - ZHAO-YONG Sun, Yue Qin Tang, Tomohiro Iwanaga, Tomohiro Sho, Kenji Kida, Bioresource Technology 102 (2011) p.10929–10935

42 - ZOBEL, H. F., YOUNG, S. N. et ROCCA, L. A. 1988a Starch gelatinization: an X-ray diffraction study. *Cereal Chem.* 65, p.443–446.

### **Webographie**

<https://gasymiarina.wordpress.com>

<https://www.fimarc.org/>

<https://www.developpement-durable.gouv.fr/>

# ANNEXES

**Annexe 1:** Préparation des solutions de CARREZ I et CARREZ II pour le dosage de l'amidon

REACTIFS : Acide chlorhydrique à 25% (P/P)  $d=1,126$

Acide chlorhydrique à 1,128% (P/V)

Solution de CARREZ I : 21,9g d'acétate de zinc  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  et 3g d'acide acétique glacial sont dissous dans 100ml d'eau distillée.

Solution de CARREZ II : 10,6g De ferocyanure de potassium  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$  sont dissous dans 100ml d'eau distillée.

**Annexe 2 :** Préparation du dinitrosalicylate de sodium

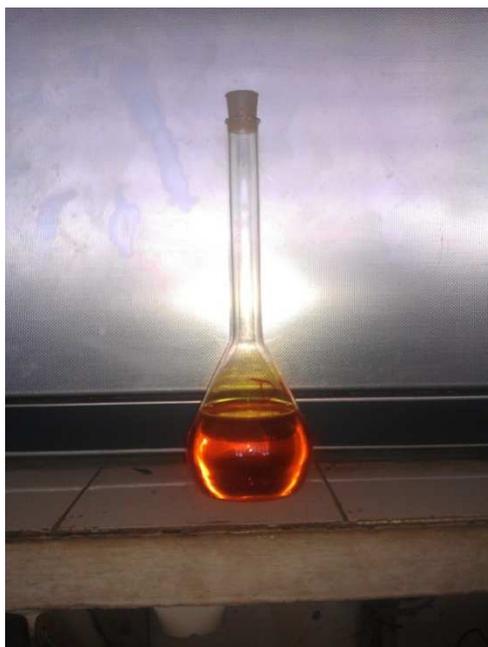
REACTIFS : Acide dinitro 3,5salicylique : 5g

Tartrate double de Na et de K : 150g

NaOH ; 8g

Quantité suffisante d'eau : 500ml

Mélanger l'eau et ses différents réactifs à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à l'obtention du liquide orange de la figure ci-après.



**Annexe 3 :** Densité optique des gammes étalons du dosage au D.N.S.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Concentration g/l	0	1,493	3,854	6,472	7,541	10,29
DO à 540 nm	0	0,081	0,209	0.351	0,409	0,558

**Annexe 4 :** Centrifugeuse



Title:Study of the conditions of the acid hydrolysis in the production of bioethanol starting from the starch of manioc

Author: RAKOTOSAMIMANANA Harimalala

.....

ABSTRACT:

The flour of manioc is known for the good quality of its starch and also for its high content of starch. The starch of manioc contains amylose 23,79% and amylopectin 76, 21%. The hydrolysis of the starch of manioc with acid catalysts (sulphuric acid and hydrochloric acid) releases from reducing sugars. The hydrolysis with the sulphuric acid gave the best result than the hydrolysis with hydrochloric acid. These formed reducing sugars are transformed into alcohol or ethanol. The hydrolysis was optimized by the variation of the parameters of hydrolysis which are the duration, the temperature, the pH and suspension (P/V). The optimum parameters identified for the hydrolysis of the starch are: the pH 2; the 5heures duration; the temperature 100°C and suspension (P/V) 9%. The yeasts *Saccharomyces cerevisiae* are revived for fermentation and these yeasts transform the reducing sugars formed into alcohol during fermentation. For the experiments *in vivo* the concentration of formed reducing sugars is of 109,84g/l for the hydrolysis with the sulphuric acid and 98,63g/l for the hydrolysis with hydrochloric acid; and for *in vitro* experiments 92,54g/l for the hydrolysis with the sulphuric acid and 68,96g/l for the hydrolysis with hydrochloric acid. The concentration of residual sugars after fermentation for the experiments *in vivo* is of 70,25g/l and 65,48g/l; 45,69g/l and 36,81g/l for *in vitro* experiments. An alcohol level of 3 and 2°GL was obtained for *in vitro* experiments and an alcohol level of 4 and 3°GL was obtained for the experiments *in vivo*.

Keywords: starch; hydrolyze acid; fermentation; distillation; ethanol.

Advisor :Doctor Valerie RAZAFINDRATOVO ANDRIAMANAMISATA

Titre : Etude des conditions de l'hydrolyse acide dans la production de bioéthanol à partir de l'amidon de manioc

Auteur: RAKOTOSAMIMANANA Harimalala

.....

RESUME:

La farine de manioc est connue pour la bonne qualité de son amidon et aussi pour sa haute teneur en amidon. L'amidon de manioc contient 23,79% d'amylose et 76,21% d'amylopectine. L'hydrolyse de l'amidon de manioc avec des catalyseurs acides (acide sulfurique et acide chlorhydrique) libère des sucres réducteurs. L'hydrolyse avec l'acide sulfurique a donné le meilleur résultat que l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique. Ces sucres réducteurs formés sont transformés en alcool ou éthanol. L'hydrolyse a été optimisée par la variation des paramètres d'hydrolyse qui sont la durée, la température, le pH et la suspension (P/V). Les paramètres optimums identifiées pour l'hydrolyse de l'amidon sont : le pH 2 ; la durée 5heures ; la température 100°C et la suspension (P/V) 9%. Les levures *Saccharomyces cerevisiae* sont revivifiées pour la fermentation et ces levures transforment les sucres réducteurs formés en alcool pendant la fermentation. Pour les expériences *in vivo* la concentration des sucres réducteurs formés est de 109,84g/l pour l'hydrolyse avec l'acide sulfurique et 98,63g/l pour l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique ; et pour les expériences *in vitro* 92,54g/l pour l'hydrolyse avec l'acide sulfurique et 68,96g/l pour l'hydrolyse avec l'acide chlorhydrique. La concentration des sucres résiduels après la fermentation pour les expériences *in vivo* est de 70,25g/l et 65,48g/l ; 45,69g/l et 36,81g/l pour les expériences *in vitro*. Un taux d'alcool de 3 et 2°GL a été obtenu pour les expériences *in vitro* et un taux d'alcool de 4 et 3°GL a été obtenu pour les expériences *in vivo*.

Mots-clés : amidon ; hydrolyse acide ; fermentation ; distillation ; éthanol.

Encadreur: Docteur Valérie RAZAFINDRATOVO ANDRIAMANAMISATA