

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de l'Ingénieur

Département de Chimie Industrielle

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Génie des procédés

**PRODUCTION D'UN SIROP DE GLUCOSE PAR HYDROLYSE ACIDE ET
ENZYMATIQUE DE L'AMIDON DE MAÏS ET OBTENTION DU SORBITOL PAR
HYDROGENATION CATALYTIQUE.**

Par

Abdelaziz BENDALI

devant le jury composé de :

M.W. NACEUR	Maître de conférences, U.S.D. Blida	Président
H. BOUCHEKOUK	Chargé de cours, U.S.D. Blida	Rapporteur
A. TOUATI	Maître de conférences, E.N.S. Kouba	Examineur
M. ZOUIKRI	Maître de conférences, U.S.D. Blida	Examineur
A. BADIS	Maître de conférences, U.S.D. Blida	Examineur

Blida, Mars 2005

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont à Monsieur **H. BOUCHEKOUK** qui à accepté de suivre ce travail, je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance pour l'aide précieuse et les marques d'estime et de sympathie qu'il m'a témoignées tout au long de ce travail.

Je remercie Monsieur **T. YACOUBI** pour son aide, ses conseils ainsi que la rigueur qui l'a apporté dans l'élaboration des analyses chromatographiques effectuées au laboratoire du L.T.D au H.C.R. sans oublier aussi Monsieur **M. AMARI** enseignant à l'U.S.T.H.B de m'avoir accueilli dans son laboratoire qui m'a permis d'effectuer une partie de mon expérimentation.

Mes remerciements vont également à Monsieur **M.W. NACEUR** pour avoir accepté de présider le jury. Que Messieurs **A. TOUATI, M. ZOUIKRI et A. BADIS** qui m'ont fait l'honneur de juger ce modeste travail, trouve le témoignage de ma haute considération.

Enfin je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma petite famille pour son aide, sa compréhension et ses constants encouragements.

RESUME

L'obtention d'un sirop de glucose par hydrolyse de l'amidon de maïs peut être réalisé en modifiant les conditions de la réaction, c'est à dire en variant la température, la concentration du substrat, la concentration de l'enzyme pour l'hydrolyse enzymatique et le pH pour l'hydrolyse acide.

Notre travail est de comparer la production de sirop de glucose par hydrolyse acide et enzymatique afin d'obtenir un meilleur rendement ainsi qu'un essai d'hydrogénation des produits d'hydrolyses.

Les principaux résultats obtenus ont montrés qu'un utilisant HCl à pH 2 et à une température de 120°C pour l'hydrolyse acide et une α -amylase thermostable, la **TERMAMYL 120L** d'activité 7,6 KNU, à une température de 90°C et pH 5,6 pour l'hydrolyse enzymatique, on a pu obtenir respectivement 84,14 % et 51,22 % en glucose et 13,36 % et 22 % en maltose pour une solution d'amidon de maïs à 40 g/l.

Au niveau du laboratoire on a pu réaliser l'hydrogénation catalytique du sirop de glucose, provenant de l'hydrolyse enzymatique de la solution à 40 g/l d'amidon de maïs, à une pression de 6 bar et une température de 60°C pendant 48 H en présence de H₂ et du Nickel de Raney, on a pu obtenir un pourcentage en sorbitol de 5,22 %.

Mots-clés: Amidon de maïs- Hydrolyse- Sirop de glucose- Hydrogénation catalytique- polyols.

ABSTRACT

The obtaining of a glucose syrup by hydrolysis of the starch of corn can be achieved while modifying the conditions of the reaction, that is to say while varying the temperature, the concentration of the substratum, the concentration of the enzyme for the enzymatic hydrolysis and the pH for the acidic hydrolysis.

Our work is to compare the production of glucose syrup by acidic and enzymatic hydrolysis in order to get a better output as well as a test of hydrogenation of the products of hydrolyses.

The main gotten results showed that an using HCl to pH 2 and to a temperature of 120°C for the acidic hydrolysis and α -amylase thermostable, the TERMAMYL 120L of activity 7,6 KNU, to a temperature of 90°C and pH 5,6 for the enzymatic hydrolysis, one could get 84,14% and 51,22% respectively in glucose and 13,36% and 22% in maltose for a solution of starch of corn to 40 g/l.

To the level of the laboratory one could achieve the catalytic hydrogenation of the glucose syrup, coming from the enzymatic hydrolysis of the solution to 40 g/l of starch of corn, to a pressure of 6 bar and a temperature of 60°C during 48 HS in presence of H₂ and the Nickel of Raney, one could get a percentage in sorbitol of 5,22%.

Keywords: Starch of corn - Hydrolysis - Syrup of glucose - catalytic Hydrogénation - polyols.

ملخص

للحصول على محلول من غلوكوز عن طريق اماهة نشاء الذرى يمكنها أن نتحقق بتغير شروط التفاعل وذلك بالتحكم : في تغير درجة الحرارة ، تركيز المحلول الابتدائي، تركيز الأنزيم، قيمة pH للمحلول الابتدائي المستعمل في الاماهة الحمضية .

عملنا هو مقارنة إنتاج المحلول الغلوكوز عن طريق الاماهة الحمضية الانزمية من اجل التحصل على مردود عالي كما نحاول الوصول إلى هدرجة النواتج المتحصل عليها من عملية الاماهة .

النتائج الأساسية التي وصلنا إليها عند استعمال حمض الكلور (HCl) و $pH = 2$ و درجة الحرارة $120^{\circ}C$ من اجل اماهة حمضية و α اميلاز (TERMAMYL 120L) نشاطها KNU 7.6 عند درجة الحرارة $90^{\circ}C$ و $pH = 5.6$ و ذلك في حالة الاماهة الانزمية، تحصلنا على التوالي 84.14 % و 51.22 % من الغليكوز و 13.36 % و 22 % من المالتوز باستعمال محلول النشاء الذرى بتركيز 40 غ/ل .

على مستوى المخبر، تمكنا من تحقيق الهدرجة لمحلول الغلوكوز الناتج من الاماهة الانزمية لمحلول الذرى تركيزه 40 غ/ل تحت ضغط 6 بار و في درجة الحرارة $60^{\circ}C$ خلال 48 ساعة بوجود غاز الهيدروجين H_2 بوجود النيكل راني فكانت النسبة المؤوية للسوربيتول 5.22 % .

كلمة المفتاح : نشاء الذرى ، اماهة ، محلول الغلوكوز ، هدرجة ، كحول متعدد الوظيفة .

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	4
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	6
INTRODUCTION	10
1. L'AMIDON	12
1.1. Chimie de l'amidon	12
1.2. Propriétés physico-chimiques de l'amidon	19
1.3. Technologie d'obtention et de transformation dans le domaine de l'amidonnerie, Glucoserie	21
1.4. Les produits d'hydrolyse	36
1.5. Intérêt des produits d'hydrolyse de l'amidon	44
2. MATERIELS ET METHODES D'ANALYSES	52
2.1. Présentation de la matière première	52
2.2. Hydrolyse de l'amidon de maïs	53
2.3. Hydrogénation des produits d'hydrolyse	59
2.4. Contrôle physico-chimique et biochimique de l'amidon de maïs	60
2.5. Caractérisation des produits d'hydrolyse	61
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS	66
3.1. Origine du maïs	66
3.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'amidon de maïs	66
3.3. Résultats de l'hydrolyse acide	67
3.4. Résultats de l'hydrolyse enzymatique	77
3.5. Détermination des caractéristiques cinétique sur l'amidon de maïs	86
3.6. Résultats de l'hydrogénation catalytique	98
CONCLUSION	99
REFERENCES	101

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 : Les principales propriétés physico-chimiques du glucose	13
Figure 1.2 : Structure chimique de l'amylose	14
Figure 1.3 : Structure chimique de l'amylopectine	15
Figure 1.4 : Composition des différents amidon exprimées en % d'amidon sec	17
Figure 1.5 : Influence d'un traitement hydrothermique en excès d'eau sur l'état de l'amidon	20
Figure 1.6 : Transformation du grain d'amidon par voie humide	24
Figure 1.7 : Gonflement, en fonction de la température, de différents amidons, en ordonnées, g d'eau retenue par g de fraction insoluble	27
Figure 1.8 : Modifications physico-chimiques du lait d'amidon	28
Figure 1.9 : Hydrolyse acide de la liaison héli-acétal α [1-4]	31
Figure 1.10 : Différents modes d'hydrolyse de l'amidon	34
Figure 1.11 : Schéma de traitement industriel de l'amidon par NOVO A/S	41
Figure 1.12 : Comparaison du pouvoir sucrant de plusieurs sucres et polyols (le saccharose représentant l'unité)	44
Figure 1.13 : Hydrogénation du D-glucose	45
Figure 2.1 : Schéma du protocole de l'hydrolyse acide de l'amidon	55
Figure 2.2 : Schéma du protocole de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon	58
Figure 2.3 : Chromatogramme standard du sorbitol	59
Figure 2.4 : Courbe d'étalonnage de la solution de glucose	63
Figure 2.5 : Chromatogramme du mélange standard	65
Figure 3.1 : Evolution de l'hydrolyse acide à T = 70°C et pH = 4	69
Figure 3.2 : Chromatogramme des produits de l'hydrolyse acide à T = 70°C et pH 4, solution d'amidon à 40 g/l	70

Figure 3.3 : Evolution de l'hydrolyse acide à T = 90°C et pH = 3	72
Figure 3.4 : Chromatogramme des produits de l'hydrolyse acide à T = 90°C et pH3, solution d'amidon à 40 g/l	73
Figure 3.5 : Evolution de l'hydrolyse acide à T = 120°C et pH = 2	75
Figure 3.6 : Chromatogramme des produits de l'hydrolyse acide à T = 120°C et pH2, solution d'amidon à 40 g/l	76
Figure 3.7 : Température et pH optimal d'activité enzymatique, solution d'amidon à 40 g/l, activité enzymatique 1,9 KNU	78
Figure 3.8 : Influence de la température des 2 alpha-amylase, <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Bacillus licheniformis</i>	79
Figure 3.9 : Evolution de l'hydrolyse enzymatique à T = 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 0,38 KNU	81
Figure 3.10 : Chromatogramme des produits de l'hydrolyse enzymatique de la solution d'amidon à 40 g/l à T = 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 0,38 KNU	82
Figure 3.11 : Evolution de l'hydrolyse enzymatique à T = 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 7,6 KNU	84
Figure 3.12 : Chromatogramme des produits de l'hydrolyse enzymatique de la solution d'amidon à 4 g/l à T = 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 7,6 KNU	85
Figure 3.13 : Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse acide à T = 70°C et pH 4	88
Figure 3.14 : Courbe $\text{Log}(C \cdot 10^3) = f(t)$ de l'hydrolyse acide à T = 70°C et pH 4	89
Figure 3.15 : Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse acide à T = 90°C et pH 3	90
Figure 3.16 : Courbe $\text{Log}(C \cdot 10^3) = f(t)$ de l'hydrolyse acide à T = 90°C et pH 3	91
Figure 3.17 : Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse acide à T = 120°C et pH 2	93
Figure 3.18 ; Courbe $\text{Log}(C \cdot 10^3) = f(t)$ de l'hydrolyse acide à T = 120°C et pH 2	94
Figure 3.19 : Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse enzymatique à T = 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 0,38 KNU	95
Figure 3.20 : Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse enzymatique à T = 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 7,6 KNU	96
Figure 3.21 : Chromatogramme de l'hydrogénation catalytique de l'hydrolysate de la solution d'amidon à 40 g/l de quantité enzymatique 7,6 KNU	98

Tableau 1.1 : Composition des différents amidons exprimées en % d'amidon sec	16
Tableau 1.2 : Teneur de divers grains et tubercules en amidons. Formes et dimensions des grains d'amidon	18
Tableau 1.3 : Différentes couleurs de complexe amylose-iode en fonction du degré de Polymérisation	25
Tableau 1.4 : Caractéristiques des enzymes dégradant l'amidon	35
Tableau 1.5 : Différents produits d'hydrolyse issu de l'amidon	37
Tableau 1.6 : Propriétés générales des sucres issus de l'amidon en fonction de leur DE	38
Tableau 1.7 : Propriétés principales du sorbitol	46
Tableau 1.8 : Principales propriétés de quelques sucres et polyols en application Alimentaire	50
Tableau 2.1 : Composition du maïs entrant et rendements d'extraction	52
Tableau 3.1 : Résultats d'analyses physico-chimiques du maïs et de l'amidon de maïs	66
Tableau 3.2 : Production en g/l/h d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 70°C et pH 4	67
Tableau 3.3 : Température de gélatinisation de quelques amidons	68
Tableau 3.4 : Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 70°C et pH 4	68
Tableau 3.5 : Production en g/l/h d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 90°C et pH 3	71
Tableau 3.6 : Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 90°C et pH 3	71
Tableau 3.7 : Production en g/l/h d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 120°C et pH 2	74
Tableau 3.8 : Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 120°C et pH 2	74
Tableau 3.9 : Détermination de la température et du pH optimum de l' α amylase	77
Tableau 3.10 : Production d'équivalents glucose en g/l/h à 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 0,38 KNU	80

Tableau 3.11 : Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse enzymatique à une température de 90°C et pH 5,6,activité enzymatique 0,38 KNU	81
Tableau 3.12 : Production d'équivalents glucose en g/l/h à 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 7,6 KNU	83
Tableau 3.13 : Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse enzymatique à une température de 90°C et pH 5,6 activité enzymatique 7,6 KNU	83
Tableau 3.14 : Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse acide à T = 70°C et pH 4	88
Tableau 3.15 : Calcul de Log (C 10 ³) en fonction du temps de l'hydrolyse acide à T = 70°C et pH 4	89
Tableau 3.16 : Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse acide à T = 90°C et pH 3	90
Tableau 3.17 : Calcul de Log (C 10 ³) en fonction du temps de l'hydrolyse acide à T = 90°C et pH 3	91
Tableau 3.18 : Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse acide à T = 120°C et pH 2	92
Tableau 3.19 : Calcul de Log (C 10 ³) en fonction du temps de l'hydrolyse acide à T = 120°C et pH 2	93
Tableau 3.20 : Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse enzymatique à T = 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 0,38 KNU	95
Tableau 3.21 : Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse enzymatique à T = 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 7,6 KNU	96

INTRODUCTION

Le sucre substance chimiquement définie sous le nom de saccharose, présente un ensemble de propriétés organoleptiques, nutritionnelles et fonctionnelles qui expliquent son succès en tant qu'aliment consommé et en tant que matière première pour l'industrie agro-alimentaire.

L'industries sucrières et la production de saccharose s'est développée pour répondre à la demande concernant les trois principales fonctions qui ont fait apprécier le sucre: le pouvoir sucrant, la valeur nutritionnelle et énergétique et le pouvoir conservateur.

En plus de cette industrie, il existe de nombreuses utilisations non alimentaires (textile, colle, adhésif, papeterie, boue de forage...) et on peut penser que dans un proche avenir, du fait des problèmes d'énergie, l'amidon devient le bio polymère d'une industrie nouvelle, celle des « plastiques biologiques » [1].

Cependant ce polymère doit être réservé en premier lieu à l'alimentation. Il est en effet constitué uniquement de glucose, ose absorbable et métabolisable par la voie du cycle de Krebs, véritable moteur générateur de l'énergie humaine, doté de propriétés technologiques et fonctionnelles particulièrement appréciées en industrie alimentaire et dans l'art culinaire.

Le saccharose sucre des plantes telles que la betterave et la canne, se présente à l'état pur, qui est l'état commercialisable, sous forme de cristaux blancs. Sa molécule est formée par la liaison d'une molécule de glucose et d'une molécule de fructose. En solution aqueuse, la présence d'un acide fort rompt cette liaison moléculaire en libérant les molécules de glucose et de fructose donnant une solution communément appelée « sucre inverti ».

Depuis une vingtaine d'années, l'irrésistible ascension du sucre semble stoppée, voire remise en question. Des produits ou substances qui n'ont qu'une partie de ses propriétés se développent, parce qu'ils en possèdent d'autres qui leur donnent un avantage sur le sucre pour une partie au moins de ses usages.

Un nouveau mouvement va apparaître lié à la surconsommation de produits sucrés. On va bientôt chercher à manger autant en quantité et en qualité, mais beaucoup moins en termes énergétiques, c'est alors l'avènement des produits allégés pour lesquelles on va chercher des substances sucrantes mais peu ou non caloriques (c'est le développement des édulcorants, dont la saccharine était le prototype), le développement de sucres peu cariogènes et de substances de substitution capables de remplir les autres fonctions du saccharose (conservation, effet de charge).

C'est ainsi que vont naître et prospérer de nouvelles industries:

- celle des édulcorants intenses.
- celle des autres sucres dérivés de produits extraits de la pomme de terre (féculé) et des céréales (maïs, blé): amidon, dextrine, maltose, glucose etc...[2].

Les céréales en tant que telles sont largement utilisées comme source d'énergie et de protéines dans l'alimentation animale et humaine. Ils apparaissent aussi être une biomasse industrielle susceptible d'être valorisée.

Source d'amidon, de protéines, de lipides, de fibres..., les céréales peuvent être fractionner afin de valoriser les constituants séparément. Ainsi le traitement industriel du maïs est un modèle de « raffinerie verte », produisant un ensemble de produits amidon et dérivés, sirops de glucose et de fructose, huile, liqueurs de trempage... et alcool.

Les sirops de glucose sont produits à partir d'amidon, qu'il soit de maïs, de blé, de riz, de manioc ou de pomme de terre. L'hydrolyse de l'amidon par voie acide et/ou enzymatique libre, quand elle est poussée au stade le plus avancé, les molécules de glucose, uniques constituants de l'amidon. L'intérêt de ces sirops réside dans le fait qu'ils sont tout à fait de concurrence et d'avoir la même constitution que le sucre traditionnellement utilisé dans l'industrie.

L'hydrogénation catalytique des sirops de glucose est une technique qui donne lieu à des produits de très grand intérêt, comme le sorbitol, de point de vue alimentaire et pharmaceutique [3].

Les grandes lignes de notre protocole expérimental sont:

- Caractérisation de l'amidon de maïs produit par l'amidonnerie de MAGHIA.
- Optimisation des paramètres de l'hydrolyse acide et enzymatique avec caractérisations des produits obtenus.
- Essai d'hydrogénation catalytique des produits obtenus après hydrolyse enzymatique.

CHAPITRE 1

L'AMIDON

1.1. Chimie de l'amidon :

1.1.1. Définition :

L'amidon est, après la cellulose, la principale substance glucidique synthétisée sous forme de réserve par les végétaux supérieurs à partir de l'énergie solaire. Polymère du glucose, il constitue, par conséquent, une source naturelle et énergétique indispensable à l'alimentation des êtres vivants, en particulier à celle de l'homme [4].

1.1.2. Composition et structure chimique de l'amidon :

L'amidon est un polymère constitué uniquement de molécules d' α .D glucopyranose. Les unités de glucose sont liées entre elles par des liaisons α [1-4] et en moindre quantité par des liaisons α [1-6].

L'amidon possède une structure physique organisée en zones amorphe et cristalline, due à l'association intermoléculaire des deux principaux constituants qui sont l'amylose et l'amylopectine [].

L'amidon de maïs est composé environ de 27 % d'amylose et le reste représenté par l'amylopectine. Ce polymère du D-glucose est un assemblage de plusieurs milliers de molécules de glucose liées chimiquement entre elles. La figure 1.1 représente la structure chimique et les principales propriétés physico-chimiques de la molécule du D-glucose.

Il est, à l'heure actuelle, reconnu que le grain d'amidon est constitué d'au moins 3 types de composants glucidiques: l'amylose, l'amylopectine et un matériel intermédiaire dans des proportions qui varient d'un amidon à l'autre.

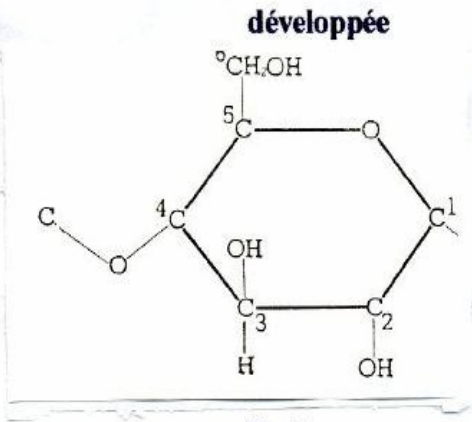
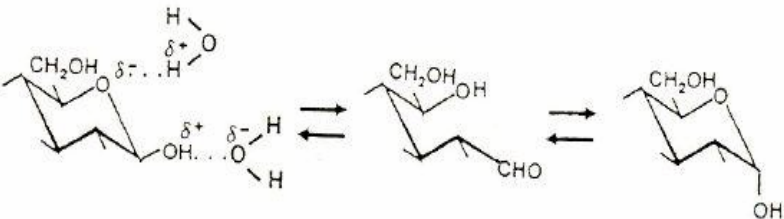
Formule brute $C_6H_{12}O_6$	développée  D-glucose												
<p>Poids moléculaire : 180,2 g/mole</p> <p>Point de fusion : α D-glucose:146°C; β D-glucose: 150°C</p> <p>$[\alpha]_D^{20}$: α D-glucose: +112,4°; β D-glucose: +18,7°</p> <p>Solubilité à 20°C (g/100ml H₂O): α D-glucose:82,5; β D-glucose: 178</p> <p>Réducteur à chaud des liqueurs de Fehling.</p> <p>Pouvoir sucrant :0,7</p>													
<p>Mutarotation du glucose :</p>  <table border="1" data-bbox="347 1480 1225 1682"> <thead> <tr> <th></th> <th>4C_1 β-D-GLUCOPYRANOSE</th> <th>FORME LINÉAIRE</th> <th>4C_1 α-D-GLUCOPYRANOSE</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Solide</td> <td>100 %</td> <td>0 %</td> <td>0 %</td> </tr> <tr> <td>en solution</td> <td>63 %</td> <td>0,1 %</td> <td>37 %</td> </tr> </tbody> </table>			4C_1 β -D-GLUCOPYRANOSE	FORME LINÉAIRE	4C_1 α -D-GLUCOPYRANOSE	Solide	100 %	0 %	0 %	en solution	63 %	0,1 %	37 %
	4C_1 β -D-GLUCOPYRANOSE	FORME LINÉAIRE	4C_1 α -D-GLUCOPYRANOSE										
Solide	100 %	0 %	0 %										
en solution	63 %	0,1 %	37 %										

Figure 1.1: Les principales propriétés physico-chimiques du D-glucose

1.1.2.1. l'amylose :

L'amylose est généralement décrite comme une macromolécule linéaire constituée de résidus D-anhydroglucopyranose associés entre eux par la liaison α [1-4], elle représente 20 % de la molécule d'amidon.

Une extrémité de la chaîne porte le groupement pseudo-aldéhyde réducteur, l'autre, un résidu sans groupement réducteur [6].

Son degré de polymérisation (DP) varie entre 200 à 6000 résidus D-anhydroglucopyranose suivant l'origine botanique (figure 1.2).

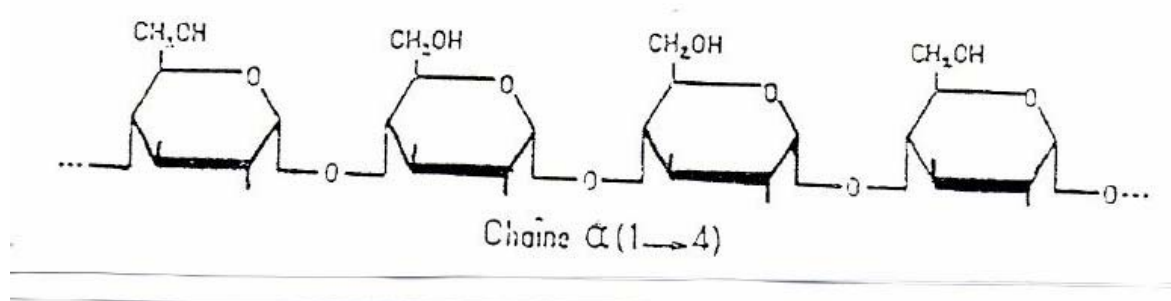


Figure 1.2: Structure chimique de l'amylose

1.1.2.2. L'amylopectine :

L'amylopectine est un polymère hétérogène de structure ramifiée. C'est une macromolécule dans laquelle les unités anhydroglucose sont liées entre elles par des liaisons $\alpha[1-4]$ en des chaînes non linéaires ou ramifications, greffés les uns aux autres par des liaisons $\alpha[1-6]$.

Le nombre de ces liaisons $\alpha[1-6]$ représente 5 à 6 % de l'ensemble des liaisons de l'amylopectine. Son degré de polymérisation est de l'ordre de 10^5 à 10^9 unités de glucose [7].

Cette macromolécule d'amylopectine (figure 1.3) est généralement considérée comme la plus volumineuse des molécules biologiques [8].

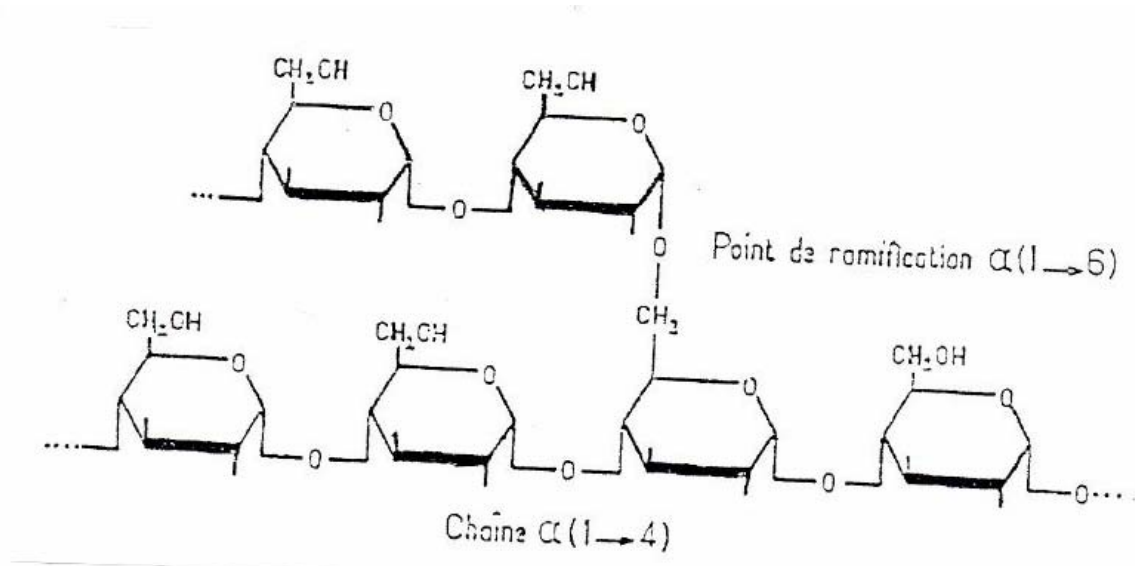


Figure 1.3: Structure chimique de l'amylopectine

1.1.2.3. Le « Matériel intermédiaire »:

Ce troisième composant de l'amidon diffère des deux premiers par la masse molaire, le degré de branchement, la capacité de fixation de l'iode et la sensibilité à l'action des enzymes amylolytiques. Elle peut représenter jusqu'à 20 % de la molécule d'amidon et dont la structure se situe entre l'amylose et l'amylopectine [6].

1.1.2.4. La fraction non glucidique:

La fraction non glucidique contenue dans l'amidon représente environ 0,5 % à 2 % de leur composition chimique totale (tableau 1.1).

Tableau 1.1: Composition des différents amidons exprimées en % d'amidon sec [9].

amidons	amylose	Lipides	protéines	cendres	phosphore
Maïs normale	28	0,65	0,30	0,10	0,015
Maïs cireux	<1	0,23	0,10	0,10	0,003
Maïs riche en amylose	65-70	1,11	0,50	0,20	0,03
blé	25-28	0,24	0,33	0,30	0,05
Pomme de terre	19-22	0,99	0,05	0,30	0,04
Pois lisse	33-35	0,19	0,18	0,05-0,22	0,04

1.1.3- Les différents type et forme d'amidon:

La source potentielle d'amidon la plus importante est représentée par les grains de céréales: maïs, blé, seigle, orge, avoine, riz et sorgho (40 à 90 % de la matière sèche), les graines de légumineuses (30 à 70 % de la matière sèche) et les tubercules principalement les pommes de terre, patate douce, manioc et igname (65 à 85 % de la matière sèche).L'amidon se présente donc dans les céréales, légumineuses et tubercules sous la forme de grains plus ou moins enchâssés dans la matrice protéique de la cellule (figure 1.4).

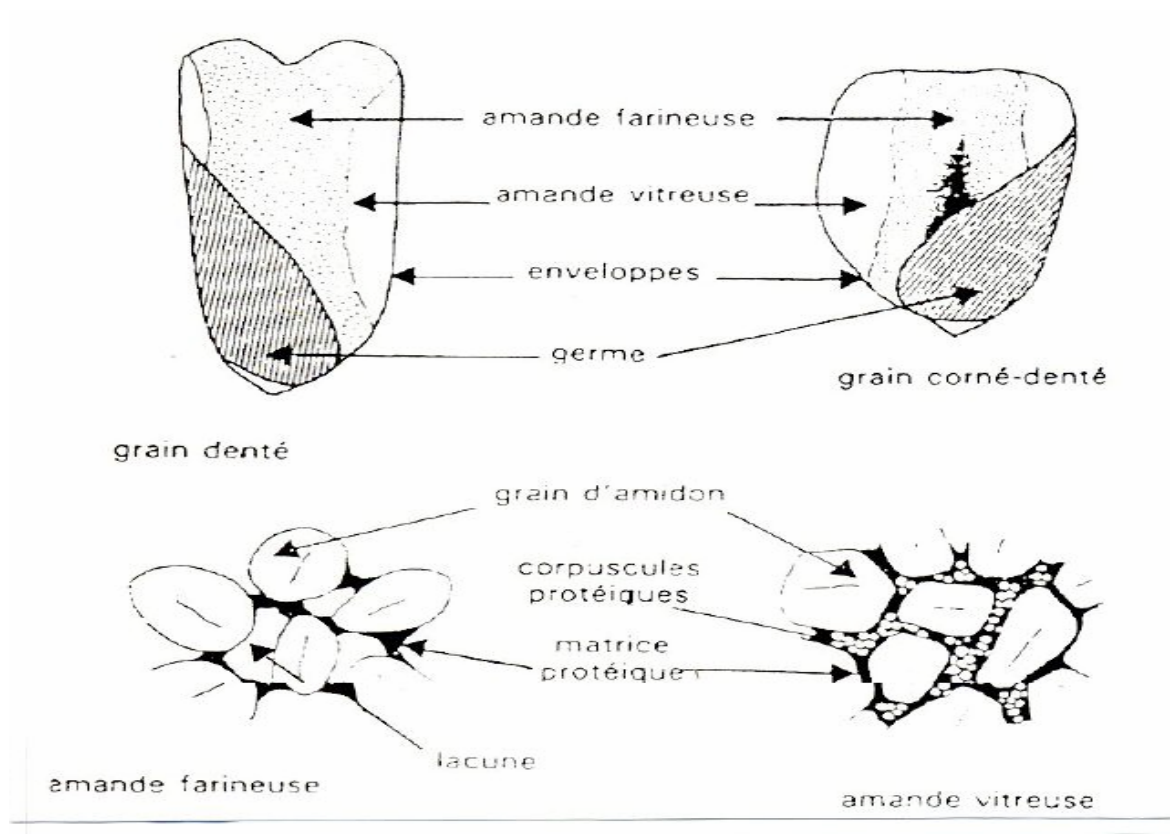


Figure 1.4: Coupes longitudinales de grain de maïs

Ces grains, extraits de la plante, ont l'aspect d'une poudre blanche insoluble dans l'eau froide. Leur forme et leur taille dépendent de leur origine végétale. Les amidons de tubercules sont généralement volumineux, ellipsoïdaux et présentent une partie excentrée, appelée hile (pomme de terre).

Plus rarement, les grains sont sphériques ou hémisphériques tronqués (manioc) ou encore polyédriques (igname). Les amidons de céréales sont par contre polymorphes, de forme lenticulaire (blé, seigle, orge) polyédrique (maïs, riz) ou filamenteuse (maïs riche en amylose), et les amidons de légumineuses sont le plus souvent réniformes avec un hile central allongé ou étoilé. Il faut aussi souligner la grande hétérogénéité de la taille des grains à l'intérieur d'une même population (tableau 1.2) [9].

Tableau 1.2: Teneur de divers graines et tubercules en amidons. Forme et dimensions des grains d'amidon [9].

Origine botanique	Amidon % M.S.	Forme	Diamètre en μ
Céréales			
* Avoine vêtue	41,5 - 43,3	lenticulaire, polyédrique	5 - 15
nue	63,8 - 67,0		2 - 38 (30)
* Blé	67,2 - 68,4		5 - 25
* Maïs normal	71,0 - 74,0		Polyédrique
* Mil	68,0 - 69,6		Lenticulaire
* Orge vêtue	54,8 - 59,3		2 - 5
nue	64,9 - 68,2		20 - 30
* Riz	74,6 - 88,0		Polyédrique
* Seigle	60,3		3 - 8
			lenticulaire
Tubercules			
* Igname	68,5 - 82,8	polyédrique, sphérique	1 - 70
* Manioc	85,0 - 86,6	Hémisphérique, sphérique	5 - 35
* Patate douce	69,2 - 72,0	polyédrique	10 - 25
* Pomme de terre	65,0 - 85,0	ellipsoïdale	15 - 100
Légumineuse			
* Arachide	0,9 - 6,7	sphérique ovoïde réniforme	6
* Fève - Féverole	30,0 - 43,0		17 - 31
* Haricot	30,0 - 35,0		réniforme (simple)
* Lentille	55,0 - 68,0		5 - 10
* Pois lisse	43,0 - 48,0		réniforme (simple)
* Pois ridé	32,0 - 37,0		rosette (composé)
		rosette (composé)	30 - 40

1.2. Propriétés physico-chimiques de l'amidon:

1.2.1. Aspect biochimique:

La présence des groupes hydroxyles peut donner des réactions chimiques caractéristiques dues à leur caractère dipolaire et à leur configuration spatiale: doublets non saturés sur la couche électronique externe. Ils peuvent créer des liaisons hydrogènes avec groupements polaires [-OH] [-NH₂] et des liaisons intra et inter-moléculaires (avec H₂O par exemple).

1.2.2. Conséquences structurales:

La conséquence de ces liaisons hydrogènes est la constitution de zones plus ou moins organisées [10]:

- zones cristallines avec des liaisons intenses, nombreuses et régulières
- zones amorphes présentant des irrégularités de liaisons.

On admet généralement que ce sont les zones cristallines qui confèrent au granulé d'amidon, sa rigidité et qui s'opposent à sa solubilisation et au gonflement qui en résulte à température ambiante [11].

L'absorption d'eau est un phénomène exothermique et réversible, quand il se limite aux plages amorphes du granulé.

1.2.3. Phénomène de gélatinisation:

L'amidon se comporte différemment suivant la température:

- à température ambiante, il est insoluble dans l'eau à cause de ses liaisons hydrogènes très fortes et très nombreuses inter et intra moléculaires.
- à températures voisine de 40-50°C, on observe l'apparition de fissures au sein du grain et une augmentation de son diamètre, qui peut être réversible.
- à températures élevée (> 60°C), l'amidon gonfle irréversiblement. Son organisation granulaire se disloque, sa solubilité augmente, et il devient visqueux et transparent. C'est le phénomène de gélatinisation (Figure 1.5). Il faut de fortes températures (>100°C) ainsi que des forces de cisaillement pour obtenir sa solubilisation complète [12].

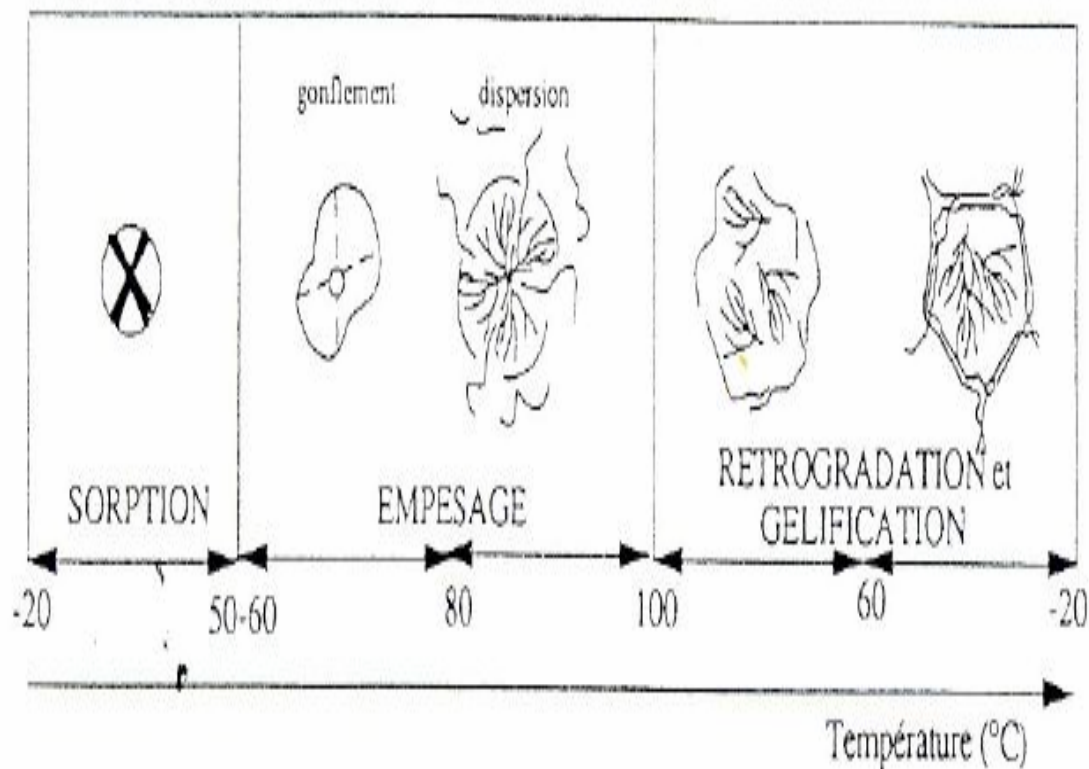


Figure 1.5: Influence d'un traitement hydro thermique en excès d'eau sur l'état de l'amidon [13].

1.2.4. Phénomène de rétrogradation:

Lorsque le refroidissement survient après la gélatinisation, on observe la rétrogradation de l'amidon, c'est à dire la formation d'un gel insoluble dans l'eau.

La viscosité du gel dépend de plusieurs facteurs physico-chimiques:

- nature de l'amidon.
- pH.
- certains ions [Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , K^+].

Ainsi l'ajout d'une α -amylase ou de sels minéraux au cours de la gélatinisation empêche la rétrogradation.

Pour éviter ce phénomène de rétrogradation, les amidons commerciaux ont été modifiés par traitement acide, à une température inférieure à celle de la gélatinisation [13].

1.3. Technologie d'obtention et de transformation dans le domaine de l'amidonnerie

glucoserie :

Si depuis des millénaires, nos ancêtres ont su transformer par fermentation, l'amidon des céréales, blé, riz, maïs et sorgho pour la préparation de nos aliments, il a fallu le 19^e siècle pour que les premiers amidons modifiés sous forme de dextrines fassent leur apparition sur le marché. Mais c'est réellement depuis trente ou quarante ans seulement que les traitements chimiques et enzymatiques ont pris leur essor et que les amidons ainsi modifiés trouvent des applications dans les industries aussi bien alimentaires qu'industrielles.

Sous le terme « amidonnerie », on entend l'amidonnerie humide, le traitement par voie humide des différentes matières premières, dont les plus disponibles sont la pomme de terre, le maïs et le blé.

La vocation première des amidonneries est de séparer les produits qui constituent la matière première, pour aboutir à l'amidon.

On obtient ainsi :

- pour le maïs: les solubles, l'huiles, les tourteaux, les drêches, les protéines et surtout l'amidon
- pour la pomme de terre: les pulpes, la protéine et la fécule.
- pour la farine de blé: le gluten et les amidons.

1.3.1. Technologie d'obtention de l'amidon :

Dès sa réception, le maïs est nettoyé et débarrassé de ses impuretés. Il subit ensuite une série d'opérations en suspension dans l'eau. C'est pourquoi on appelle cette première étape amidonnerie humide [14].

1.3.1.1. Trempage du grain:

Cette opération a pour but de faire gonfler les grains et de les ramollir, afin de faciliter par la suite la séparation des granules d'amidon du réseau protéique qui les entoure, ainsi que les produits solubles.

Le trempage est réalisé dans des batteries de grandes cuves pendant 30 à 48 heures (suivant le type de maïs utilisé), à une température de 50 à 52°C, dans de l'eau contenant de l'anhydride sulfureux.

Les eaux de trempage circulent d'une cuve à l'autre, de la plus anciennement chargée à la plus récente, en sens inverse des mises en trempe, afin de les charger au maximum de toutes les particules solubles (sucres, sels minéraux, protéines et acide lactique).

Elles sont alors soutirées, puis concentrées par évaporation sous vide. Ainsi traitées les eaux de trempage servent à la fabrication d'antibiotiques et, dans la mesure où ce débouché ne couvre pas toutes les fabrications, elles sont mélangées aux drèches, c'est-à-dire aux éléments cellulosiques livrés à l'alimentation du bétail.

Lorsqu'elles sont vendues séparément, elles portent dans le commerce le nom américain de « corn steep ».

1.3.1.2 Dégermage:

Le grain, ramolli par le trempage, subit un broyage grossier qui lui fait éclater en libérant la germe sans le briser. Puis il passe dans des batteries d'hydro cyclones où les germes, plus légers, sont séparés des constituants du grain.

Les germes sont lavés, séchés, puis pressés pour en extraire l'huile brute; le tourteau résiduel est destiné à l'alimentation animale. L'huile brute est utilisée en fonderie, en savonnerie et en pharmacie, mais elle est surtout vendue à des raffineries qui la purifient pour l'alimentation humaine. Onctueuse et d'un goût très agréable, l'huile de germe de maïs est utilisée pour les assaisonnements et la friture, car lorsqu'on la chauffe elle présente la grande qualité de ne pas fumer avant 160°C (fabrication de chips).

1.3.1.3. Broyage-Tamisage:

La suspension qui reste après extraction des solubles et des germes et qui comprend l'amidon, les protéines et les fibres cellulosiques, est très finement écrasée par des broyeurs à « attrition » (il s'agit de disques cannelés tournant en sens inverse) ou à « impact » (ce sont des rotors tournant à grande vitesse et projetant le produit contre des « impacteurs » placés sur le rotor et le stator de la machine). Ce traitement permet une « libération » quasi totale de l'amidon.

1.3.1.4 Séparation de l'amidon et du gluten:

Il ne reste plus en suspension que l'amidon et la protéine de maïs appelée gluten. On sépare ces deux éléments par centrifugation, l'amidon étant le plus lourd.

Le gluten est concentré puis séché; il peut être utilisé directement en alimentation animale ou dans diverses industries après des traitements complémentaires. C'est le gluten qui contient les pigments jaunes du maïs.

La suspension d'amidon, couramment appelée « lait » à cause de son aspect et de sa couleur blanche, est ensuite totalement épurée par passage sur une batterie d'hydrocyclones. On obtient ainsi un lait d'amidon pratiquement pur contenant au maximum 0,3 % de protéines.

Il est soit séché en l'état, soit transformé par voie sèche, soit hydrolysé en glucoserie. L'amidon est extrait du grain de maïs par voie humide après avoir subi les 4 étapes de transformations: trempage, broyage, dégermage et centrifugation pour la séparation du gluten du lait d'amidon. La production d'amidon se fait par évaporation du lait d'amidon concentré à 40 % de matière sèche [14].

Après traitement en amidonnerie humide 100 Kg de maïs fournissent:

- 62 à 63 Kg d'amidon .
- 19 à 20 Kg de drèches, commercialisées sous le nom américain de « corn gluten feed » qui contiennent non seulement les fragments celluloseux où reste accroché un peu d'amidon, mais les solubles ou « eaux de trempage » et diverses brisures
- 4 à 5 Kg d'une farine riche en protéines (plus de 60 %) et en pigments colorants, dite « gluten de maïs » ou « gluten meal ».
- 4 Kg de tourteaux de germes.
- 3 Kg d'huile brute extraite des germes.

La série de transformations peut se résumer suivant la figure 1.6.

1.3.1.5. Séparation entre l'amylose et l'amylopectine :

L'eau chaude ne dissout que l'amylose et non l'amylopectine. L'amylose n'est pas vraiment soluble dans l'eau mais forme des micelles hydratées de structure en hélice qui confèrent un état colloïdale à la solution [9].

Une seconde méthode de fractionnement qui est la lixiviation provoque une extraction sélective de l'amylose (« *leaching* ») à une température légèrement supérieure à la température de gélatinisation (maïs 62-72°C). Le résidu granulaire est éliminé par centrifugation et l'amylose est précipité par addition d'un alcool ou du phénol [9].

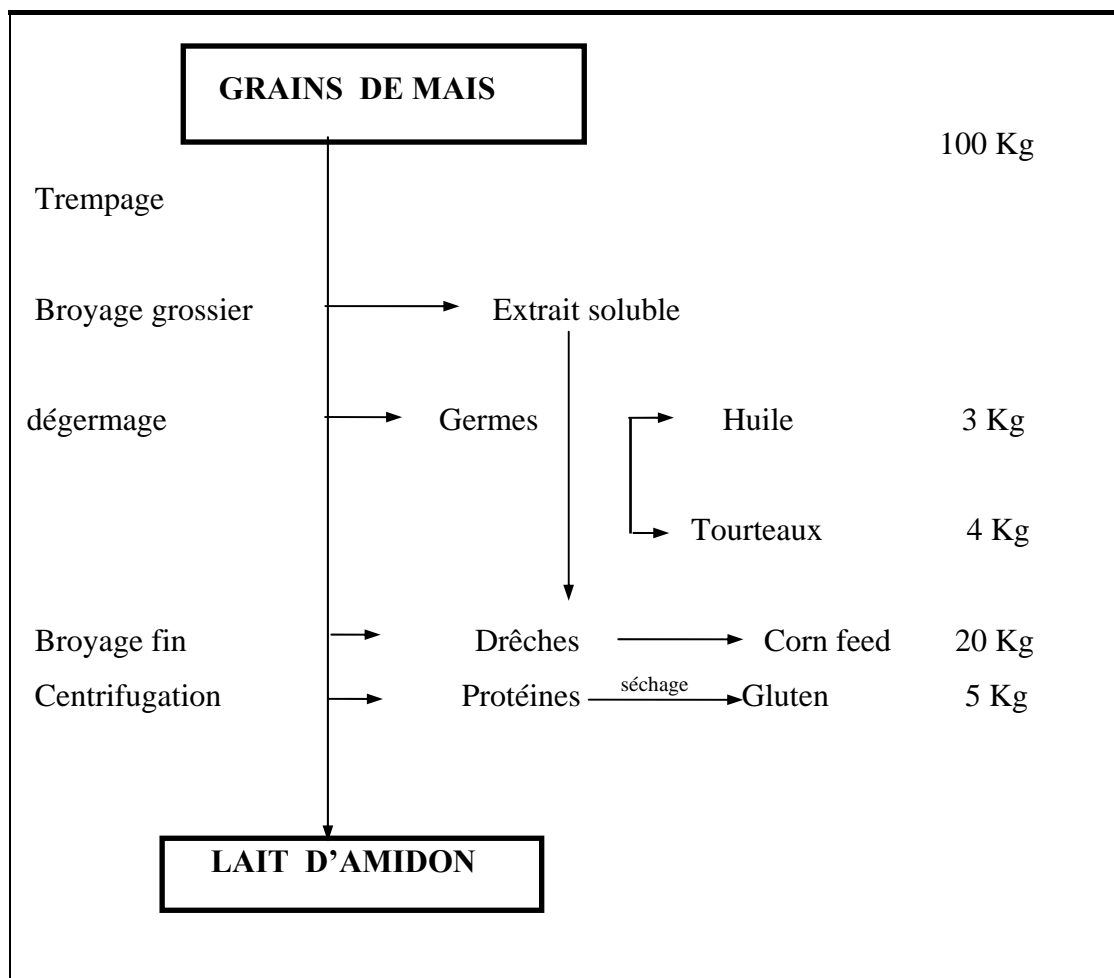


Figure 1.6: Transformation du grain d'amidon par voie humide [15].

De plus l'amylose a la propriété de fixer l'iode, à raison d'une molécule pour six unités de glucose et de former un complexe coloré absorbant dans le visible à 650 nm [10].

La couleur du complexe amylose-iode dépend du degré de polymérisation de la molécule (tableau 1.3). Plus ce degré est élevé, plus la couleur est intense [16]:

Tableau 1.3: Différentes couleurs du complexe amylose-iode en fonction du degré de polymérisation.

Degré de polymérisation	Couleur
45	Bleue
35 – 40	Violette
20 – 30	Rouge
12 – 15	Orange
12	Jaune pâle

Ce test de coloration permet :

- de déterminer la composition de l'amidon..
- d'estimer rapidement le degré d'hydrolyse de l'amidon dans les réactions enzymatiques.
- de faire des dosages d'activité α -amylasique [17].

Pour l'amylopectine en présence d'iode, une coloration rouge violette apparaît, mais moins importante qu'avec l'amylose, à cause de l'interférence des ramifications sur la formation du complexe.

1.3.2. Effets de quelques traitements sur la structure de l'amidon :

Les effets de certains traitements de technologie alimentaire sur la structure submicroscopique de l'amidon et les associations de ses macromolécules sont souvent aussi importants que ceux résultant des transformations de la structure chimique des macromolécules.

1.3.2.1. Traitement mécanique :

Au cours de l'action mécanique du broyage, les « membranes » peuvent être endommagées et les liaisons intermoléculaire en partie détruite [18].

Dans certains cas, la cristallinité disparaît. Ceci aura pour effet d'augmenter l'accessibilité des chaînes aux molécules d'eau et aux différents réactifs, en particulier aux enzymes.

1.3.2.2. Déshydratation :

Au cours du séchage de l'amidon et des produits amylicés, selon les conditions de déshydratation, différents phénomènes peuvent intervenir. Consécutivement à l'évaporation de l'eau, le grain d'amidon se contracte et de nouvelles liaisons se produisent directement entre les groupements OH des chaînes. En outre, des fissurations apparaissent à la surface et à l'intérieur des grains. Les produits amylicés ainsi séchés ont une résistance aux réactifs et aux enzymes qui est modifiée dans un sens difficile à prévoir, la formation de nouvelles liaisons inter chaînes augmentant la résistance de l'amidon, les fissurations accroissant par contre les surfaces susceptibles de réagir [19].

1.3.2.3. Traitement hydro thermique :

Les résidus anhydroglucose des chaînes d'amylose et d'amylopectine portent des groupements alcooliques. Ces groupements, grâce à leur caractère polaire, c'est à dire du fait que le centre des charges positives ne coïncide pas avec le centre des charges négatives, présentent un moment électrique non nul, et grâce à leur configuration spéciale due à la présence de doublets non saturés dans leur couche électronique externe, sont capables de former des liaisons hydrogène entre eux ou avec d'autres groupements polaires. On peut définir la liaison hydrogène comme un pont formé par l'intermédiaire d'un H entre deux atomes électronégatifs tels que N ou O [20]. Ces liaisons peuvent être soit intramoléculaires, soit intermoléculaires : entre macromolécules ou avec des molécules plus petites, l'eau, par exemple.

Des études du gonflement de l'amidon en milieu aqueux ont montré que, pour disperser l'amidon, il faut ou bien utiliser des produits chimiques capables de rompre les liaisons hydrogène, ou bien apporter l'énergie nécessaire à la rupture de ces liaisons par chauffage.

L'organisation du grain d'amidon dépend de la manière dont l'amylose et l'amylopectine sont associées par ces liaisons hydrogène inter-moléculaires. On considère que ces macromolécules sont réparties de façon apparemment homogène dans tout le grain et c'est leur degré de liaison mutuelle qui entraîne les hétérogénéités de structure. Lorsque ces liaisons sont intenses, nombreuses et régulières, les chaînes s'associent en réseaux cristallins, par contre dans les zones amorphes, même si certaines liaisons hydrogène y sont intenses, leurs irrégularités rendent les macromolécules plus indépendantes. Cette désorganisation est encore accentuée par la présence des liaisons α [1-6] de l'amylopectine.

En suspension aqueuse, les différences de comportement, sous l'action hydrothermique, des amidons ne peuvent s'expliquer par les différences de teneur en amylose et amylopectine ou de longueur des chaînes macromoléculaires. C'est dans le nombre et dans la force des liaisons inter chaînes qu'il convient de chercher l'explication.

Si l'on considère l'évolution du réseau d'amidon au cours du gonflement, on observe que les zones cristallines représentent les points de résistance du grain permettent le gonflement des zones amorphes en évitant la dispersion et la dissolution des molécules individuelles. Dans ces conditions, l'amidon résiste d'autant plus au gonflement que la proportion de zones cristallines est plus importante et que les OH des zones amorphes sont plus fortement associés [21], (figure 1.7).

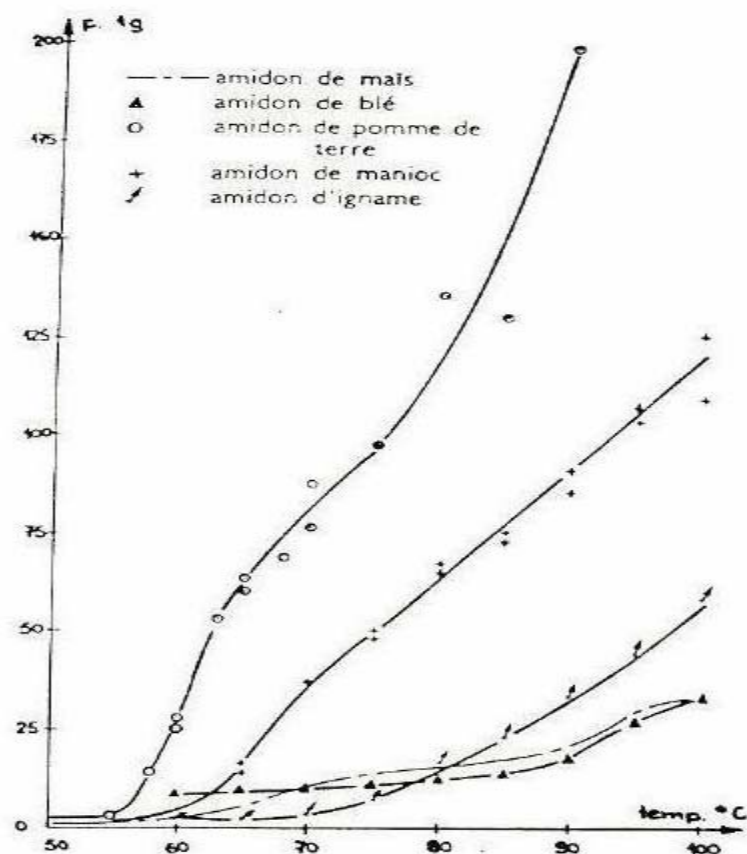


Figure 1.7: Gonflement, en fonction de la température, de différents amidons ; en ordonnées, g d'eau retenue par g de fraction insoluble.

1.3.3. Transformation de l'amidon :

Pour la filière amidon, les débouchés actuels sont déjà très diversifiés et une infinité de produits dérivés obtenus par hydrolyse ou par modifications physico-chimiques sont déjà fournis aux industries alimentaires ainsi qu'à beaucoup d'autres secteurs comme la chimie fine, la papeterie, le textile etc..

Chaîne carbonée à tout faire, l'amidon se prête remarquablement à toutes sortes de transformations (figure 1.8) conduisant à des produits de plus forte valeur ajoutée, agents de texture, adsorbants, adhésifs, remplaceurs de sucres, composants de plastiques dits biodégradables, adjuvant de cosmétiques etc..

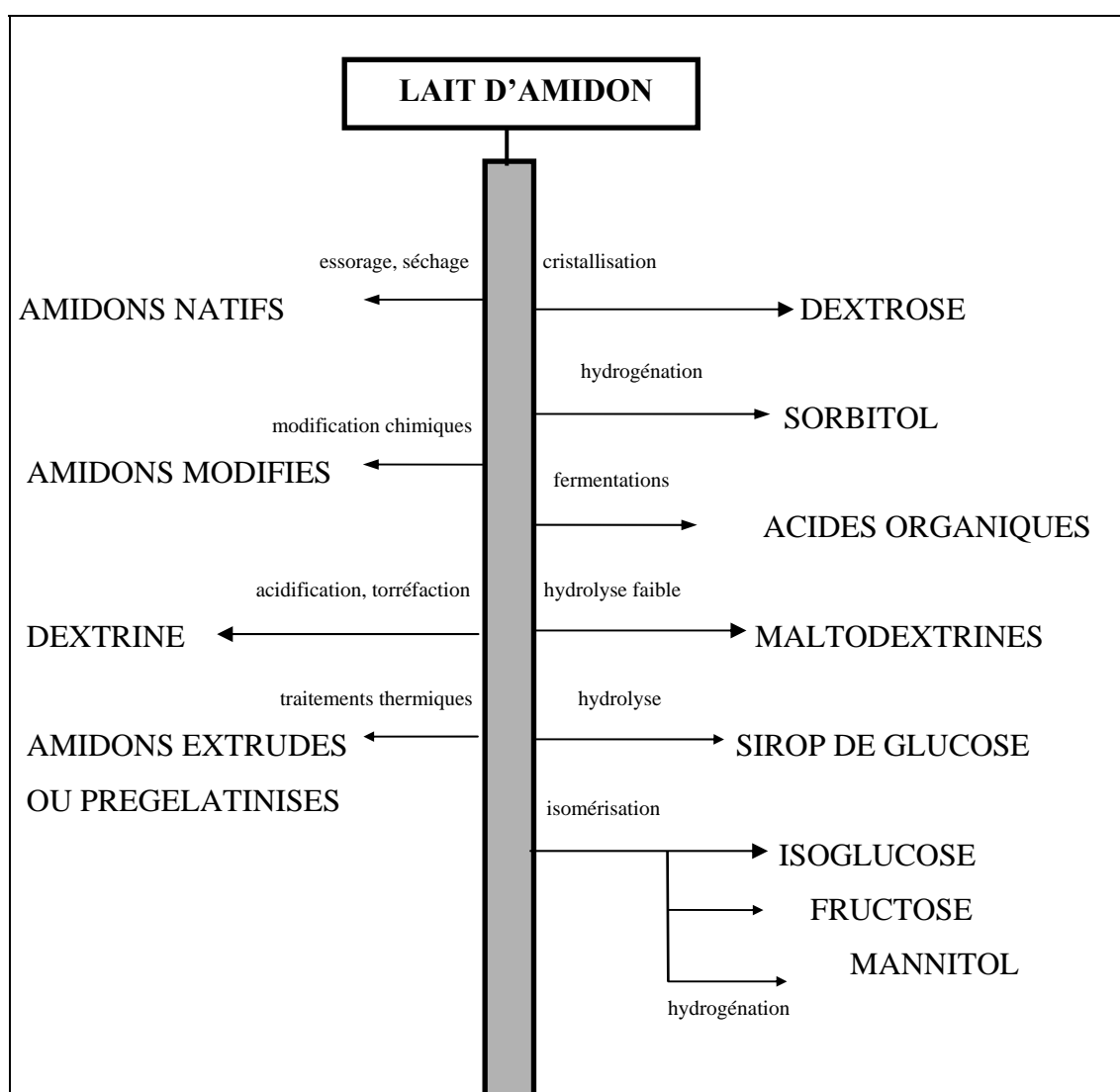


Figure 1.8 : Modifications physico-chimiques du lait d'amidon

1.3.4. L'hydrolyse de l'amidon:

La gélatinisation des granulés d'amidon (par la température) est indispensable pour permettre l'action des agents d'hydrolyse. Ce traitement hydrothermique provoque le gonflement des granulés qui se poursuit jusqu'à éclatement puis dispersion complète des molécules.

L'hydrolyse consiste à fragmenter la macromolécule d'amidon pour obtenir des assemblages de petites tailles. Elle conduit à l'obtention de D-glucose (dextrose), des fragments de deux unités D-glucose (maltose) de trois unités (trisaccharides) ou plusieurs unités (polysaccharides supérieurs) [22].

La dépolymérisation est depuis longtemps à la base de l'utilisation industrielle de l'amidon. Elle conduit globalement à une diminution du degré de polymérisation des macromolécules par suite de l'hydrolyse des liaisons glycosidiques.

Le monomère anhydroglucopyranose comporte, hormis la liaison glucosidique, trois groupements alcools réactifs: deux secondaires en C₂ et C₃, un primaire en C₆.

Les hydroxyles peuvent donner lieu à une multitude de réactions telles que des oxydations, des étherifications ou des esterifications. La liaison glucosidique n'est généralement concernée que par les réactions d'hydrolyse de la macromolécule.

Cette transformation peut être catalysée soit:

- par des composés chimiques comme les acides (HCl, H₂SO₄)
- par des composés biochimiques comme les enzymes (amylases).

1.3.4.1. Hydrolyse par voie acide:

C'est le procédé le plus largement répandu. C'est une réaction du premier ordre, irréversible et dépend de 3 facteurs [23] :

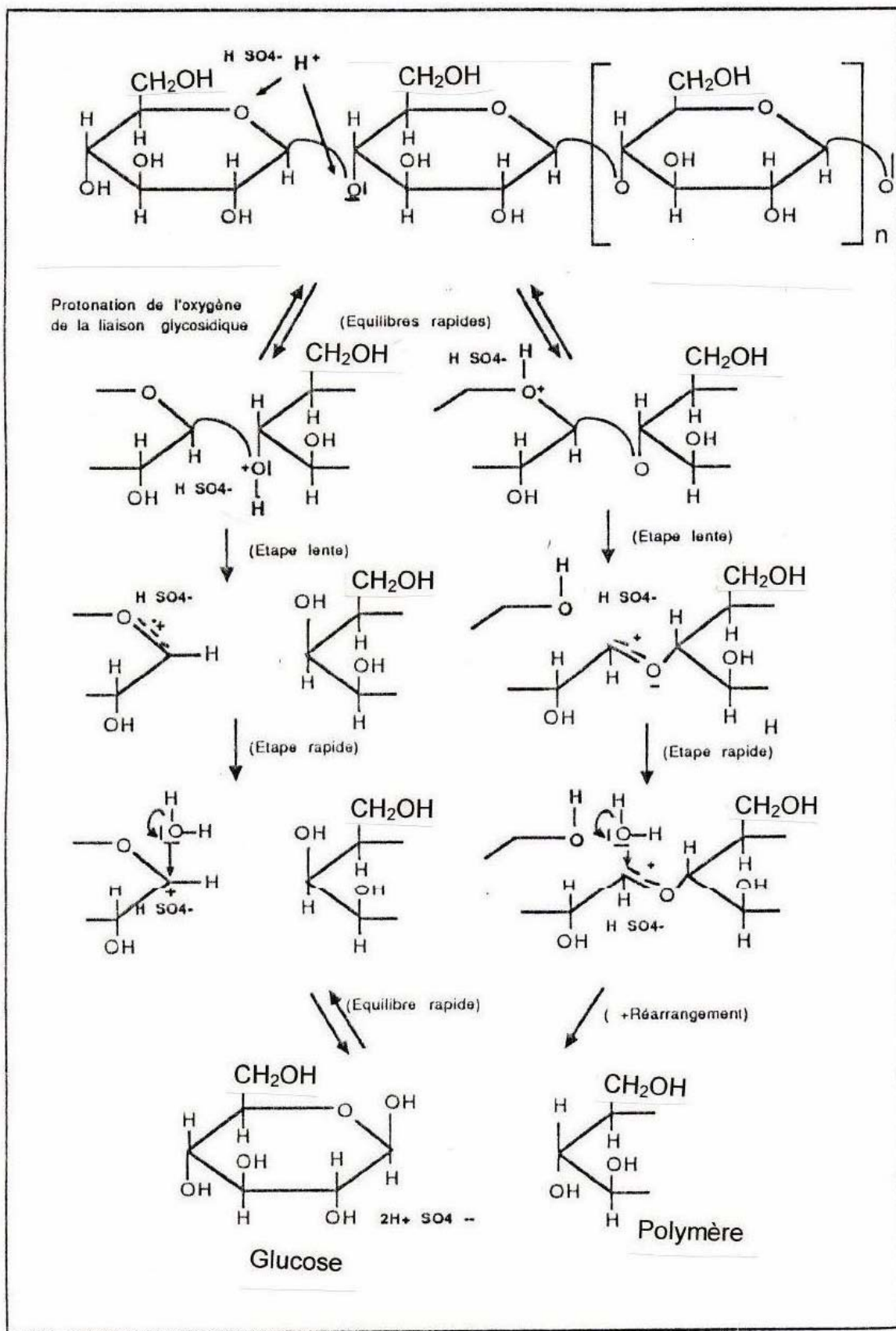
- la concentration et la nature de l'acide
- le temps
- la température

L'acide catalyse la rupture de la liaison hémi-acétal $\alpha[1-4]$: dans un premier temps, un acétal protoné apparaît sur la liaison glucosidique, sa rupture conduit à la formation d'un alcool secondaire en C₄ et un ion oxycarbonium en C₁.

Cet ion instable libère ensuite un proton par hydratation et il se crée ainsi une nouvelle extrémité réductrice pseudo-aldéhydique (figure 1.9).

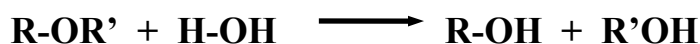
La liaison $\alpha[1-6]$ est hydrolysée de la même façon. L'énergie d'activation de l'hydrolyse de la liaison glucosidique est de l'ordre de 30 Kcal/mole.

On obtient donc, après hydrolyse complète, des unités de α -D-glucose [24].

Figure 1.9: Hydrolyse acide de la liaison hémi-acétal α [1-4]

1.3.4.2. Hydrolyse par voie enzymatique:

Les enzymes responsables de la dégradation de l'amidon sont des glucosyl hydrolases dont l'action hydrolytique irréversible peut être schématisée comme suit :



réaction dans laquelle R et R' sont des chaînons comportant 1 à n résidus anhydroglucose.

Il apparaît, à la lumière des descriptions structurales précédentes, que l'amylose et l'amylopectine ne réagiront pas de la même manière vis-à-vis des attaques enzymatiques. La saccharification, ou dégradation totale de l'amidon en glucose, fait intervenir plusieurs systèmes amylolytiques [25].

i) Les enzymes amylolytiques :

Les enzymes amylolytiques dégradent spécifiquement l'amidon, l'amylose, l'amylopectine, de même que le glycogène qui est la forme glucidique de réserve dans le règne animal.

Les amylases jouent des rôles importants dans le métabolisme animal, végétale et microbien. Par exemple chez les plantes, elles interviennent dans le phénomène de maturation et germination des graines.

Les amylases sont habituellement classées en deux catégories, selon leur mode d'attaque:

- Les endo-amylases (α amylase, pullulanase), hydrolysent les liaisons glycosidiques au hasard sur les chaînes de molécules de glucose.
- Les exo-amylases (β amylase, glucoamylase), hydrolysent les liaisons Glycosidiques en bout de chaîne à partir d'un groupement non réducteur.

Les enzymes microbiennes ont été découvertes après les enzymes d'origine animale et végétale, et se sont révélées plus faciles à purifier et à utiliser au niveau industriel. Ces progrès ont permis d'abandonner l'hydrolyse par voie acide de l'amidon au profit de la voie enzymatique [26].

ii.) Les enzymes spécifiques de la liaison α [1-4]:

► -l' α -amylase (α -1-4 glucane, 4 glucanhydrolase code E.C 3.2.1.1.) :

C'est une endo-enzyme qui est synthétisée dans le monde animal, végétal et microbien. Les microorganismes les plus connus, qui la synthétisent, sont d'origines bactériennes: *Bacillus subtilis* et *Aspergillus oryzae*.

▪ **Mode d'action** : Elle hydrolyse de façon aléatoire les liaisons α [1-4] de l'amylose et d'amylopectine.

Elles libèrent des dextrines ce qui entraîne :

- une diminution de la viscosité
- une diminution rapide de la coloration du complexe amidon-iodé.

Elles agissent pour la plupart dans des conditions de pH 4,8-6,9 et de température 40-50°C ce qui longtemps limita leur utilisation industrielle [27].

► - La β -amylase (α 1-4 glucane, maltohydrolase, code E.C. 3.2.1.2.) :

La β amylase utilisée couramment est d'origine bactérienne (*Bacillus megaterium*), cette exo-enzyme se trouve abondamment chez les végétaux supérieurs (graine), à l'état d'activité lors de la germination..

▪ **Mode d'action** : Elle hydrolyse les liaisons α [1-4] à partir de son extrémité non réductrice de la chaîne et libère du β -maltose.

iii.) Les enzymes spécifiques des liaisons α [1-4] et α [1-6]:

► - Les amyloglucosidases (1,4 α -D-glucane-glucohydrolase,code E.C. 3.2.1.3.) :

Leur découverte date des années 1950 et depuis, la production de glucose par voie enzymatique a remplacé l'hydrolyse acide.

Elles sont synthétisées essentiellement par les champignons: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*.

▪ **Mode d'action** : Ce sont des exo enzymes qui hydrolysent les liaisons α [1-4] et aussi les liaisons α [1-6] à partir des extrémités non réductrices. On obtient ainsi environ 95% de glucose 2% de disaccharides et 3% d'oligosaccharides. Elles ont des optimums d'activité de 4,5 - 5 pour le pH et 50-60°C pour la température [28]. La figure 1.10 résume les différents modes d'hydrolyse de l'amidon.

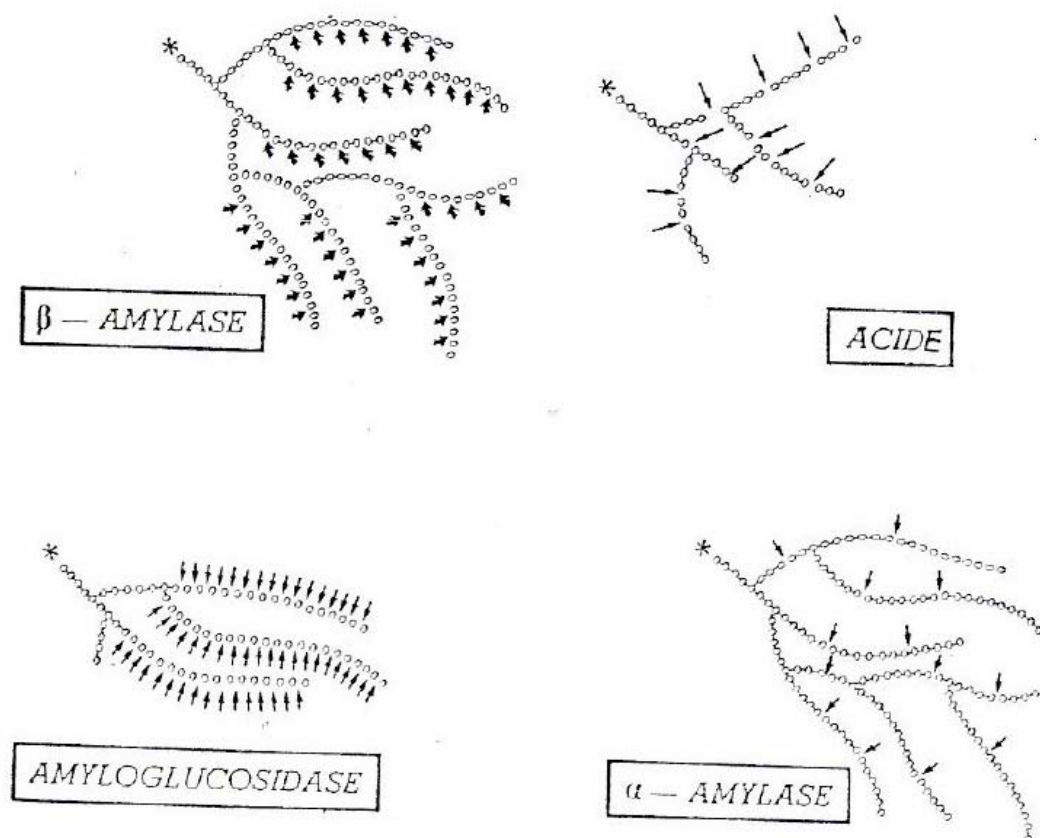


Figure 1.10: Différents modes d'hydrolyse de l'amidon

Au cours des différentes étapes de l'hydrolyse, on contrôle celle-ci soit par:

- mesure de la viscosité.
- mesure de la coloration à l'iode.
- mesure du pouvoir réducteur.
- dosage chromatographique des oses formés.

Les propriétés de ces enzymes sont rassemblées dans le tableau 1.4:

Tableau 1.4: Caractéristiques des enzymes dégradant l'amidon

Enzymes	Origine	pH optimum d'action	Température optimum d'action	Type d'attaque	Digestion amidon cru	Produit de dégradation de l'amidon
Alpha amylase EC 3.2.1.1	-salive humaine	6,9				-glucose
	-pancréas	6,9	50°C			-maltose
	<i>-aspergillus oryzae</i>	5,5	55°C			-matotriose
	<i>-aspergillus niger</i>	3,5	65°C	Endo	oui	-oligosides
	<i>-bacillus subtilis</i>	6,5	75-92°C			jusque 7
	<i>-bacillus licheniformis</i>	6,5	80-105°C			unités
	-orge germée	5,8	75°C			glucose
Béta amylase EC 3.2.1.2	-orge -microbienne	5,2 5,0-7,5	63°C	Exo	non	maltose
Pullulanase EC 3.2.1.41	<i>-klebsiella pneumoniae</i>	6,0	50-55°C	Endo	non	chaîne linéaire type amylose
Isoamylase EC 3.2.1.68	<i>-pseudomonas amyloderamose</i>	3,5	50-55°C	Endo	non	chaîne linéaire type amylose
Amylo- glucosidase EC 3.2.1.3	<i>-rhizopus -aspergillus niger</i>	4,8 4,2	55°C 60°C	Exo	oui	glucose

1.4. Les produits d'hydrolyse :

Les produits d'hydrolyse de l'amidon sont toujours des mélanges de saccharides du degré de polymérisation (D.P.) variable. La proportion de ces différents saccharides dépend :

- du degré d'hydrolyse ou dextrose équivalent (D.E).
- du mode d'hydrolyse.

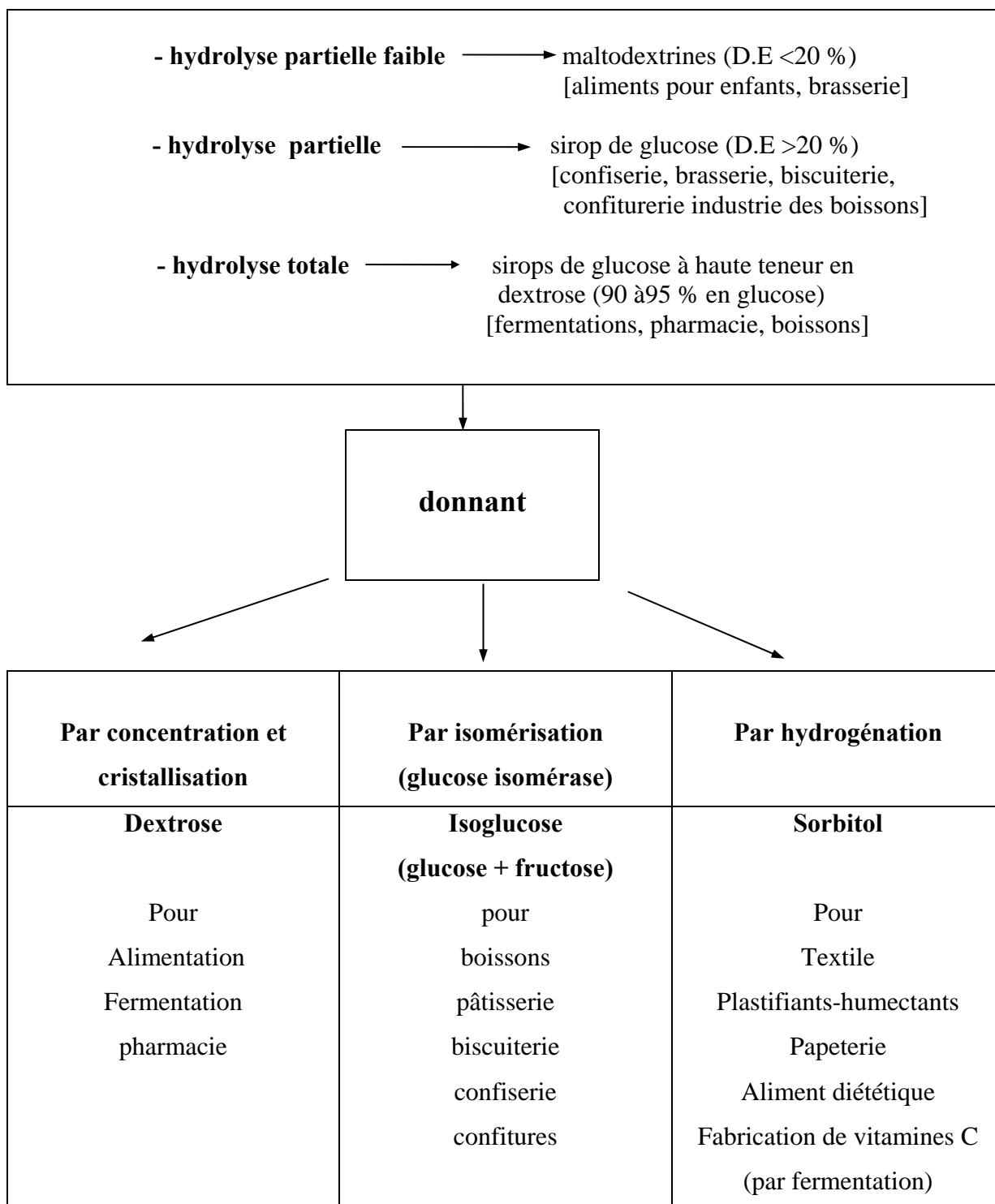
Ces produits d'hydrolyse sont caractérisés par leur dextrose équivalent qui représente le nombre de grammes de sucres réducteurs exprimés en dextrose (D-glucose chimiquement pur) pour 100g de matières sèches de l'hydrolysate. Il est mesuré généralement par la méthode chimique de la D.N.S, laquelle consiste en un dosage des fonctions réductrices

Echelle des D.E :	amidon	D.E = 0
	dextrose	D.E = 100
	maltose:	D.E = 50

Le D.E est une mesure globale qui ne renseigne nullement sur la composition détaillée des produits de d'hydrolyse. Cependant, pour un type d'hydrolyse donné, le D.E est représentatif de la composition hydrocarbonée et témoigne ainsi de l'intensité d'hydrolyse de l'amidon [29].

Le tableau 1.5 résume les différents produits d'hydrolyse provenant de l'amidon [30].

Tableau 1.5: Différents produits d'hydrolyse issu de l'amidon



Le tableau 1.6 schématise l'influence du D.E. sur les propriétés technologiques des produits d'hydrolyse [31].

Tableau 1.6: Propriétés générales des sucres issus de l'amidon en fonction de leur D.E.

Propriétés	D.E. faible		D.E. élevé	
	Amidon	Maltodextrine	Sirops de glucose	Dextrose
Viscosité	←—————			
Pouvoir liant	←—————			
Saveur sucré	—————→			
Hygroscopicité	—————→			
Pouvoir anticristallisant	←—————			
Brunissement	—————→			
Température de congélation	←—————			
Réhaussement des arômes	—————→			
Fermentescibilité	—————→			

Les produits d'hydrolyse deviennent d'autres matière premières pour l'isomérisation, l'hydrogénation, la bio-conversion, lesquelles donnent à leur tour d'autres matières premières, pour d'autres modifications physiques, chimiques, microbiologiques, d'où naissent par exemple des produits comme: le sorbose, les anhydres ou les ester de sorbitol ou les dérivés lactiques.

1.4.1. Le sirop de glucose :

1.4.1.1. Définition :

Par la directive 73/437/CEE de 11/12/73 (JOCE L356 du 27/12/73), les états membres de l'Union Européenne ont défini le sirop de glucose comme une solution aqueuse purifiée et concentrée de saccharides nutritifs obtenue à partir d'amidon et/ou de fécule répondant aux caractéristiques suivantes [32]:

- Matière sèche: pas moins de 70 % en poids
- Equivalent dextrose (D.E) : pas moins de 20 %
- Cendres sulfatées : pas plus de 1,0 % en poids sur matières sèches
- Anhydre sulfureux :
 - en général pas plus de 20 ppm (ou mg/Kg)
 - en confiserie, jusqu'à 400 ppm.

Les sirops de glucose sont obtenus par hydrolyse de l'amidon. Celle-ci peut être effectuée à l'aide d'acide, d'enzymes ou une combinaison des deux. Les produits d'hydrolyse de l'amidon sont appelés des dextrans qui sont des composés de degré de polymérisation divers : mono-, di-, tri-, oligo- ou polysaccharides.

Le terme dextrans est utilisé pour désigner les produits obtenus à partir de l'amidon indépendamment du type de dégradation subi par ce dernier. Les dextrans sont des polymères de D-glucose qui se présentent sous forme linéaire, ramifiée et cyclique [33].

1.4.1.2. Application des techniques enzymatiques dans la production des sirops de glucose:

En faisant varier ces différents paramètres et le mode d'hydrolyse, on obtient un très grand nombre de sirops de glucose.

La fabrication de sirops de glucose, selon le degré d'hydrolyse enzymatique, se déroule selon les étapes suivantes:

- Liquéfaction enzymatique continue d'un lait d'amidon très pur, à 40% de matières sèches comprenant un flash-gélatinisation des granules d'amidons, une hydrolyse enzymatique par une α -amylase thermostable, soit une dextrinisation durant 90 à 120 minutes à 90-105°C, à pH 5,5-6,5 en milieu agité en réacteur continu de type colonne. Le D.E. est alors de 8 à 10 et le test à l'iode est devenu négatif. On obtient alors un sirop de glucose.

- Si l'on veut obtenir un sirop de glucose, riche en maltose, on poursuit l'hydrolyse en semi-continu au moyen d'une β -amylase.

Ces différents types de sirops de glucose peuvent être soit sous forme de sirops à 80 % m.s., soit sous forme pulvérulente après atomisation.

- Pour obtenir le dextrose, on passe, après l'hydrolyse du lait d'amidon par l' α -amylase, à un stade complémentaire d'hydrolyse par action, en réacteur « *batch* » de l'amyloglucosidase, 72 à 96 heures à 55-60° et à pH 4,5. On peut ainsi utiliser éventuellement une amyloglucosidase « immobilisée » sur verre poreux travaillant à pH 4,5 et à 60°C [34].

- Filtration de l'hydrolysate (D.E. = 97 avec 94 à 95 % de glucose pur) et décoloration sur charbon.
- A ce stade, une concentration puis une cristallisation analogue à celle réalisée en sucrerie conduisent au dextrose alimentaire ou pharmaceutique (après purification au préalable).
- Sinon, déminéralisation, concentration et cristallisation permette d'obtenir un dextrose type pharmaceutique, injectable, spécialement contrôlé.
- L'hydrolysate filtré, déminéralisé sera susceptible d'entrer dans le cycle de la fabrication du sirop de glucose enrichi en fructose.

La fabrication de sirop de glucose à haute teneur en fructose (*high fructose corn syrups*) comprend une étape complémentaire d'isomérisation transformant environ 45% de glucose en fructose, ceci dans un réacteur en « *batch* » ou en continu et par une enzyme fixée ou un micro-organisme fixé.

La figure 1.11 montre, à titre d'exemple, un procédé industriel appliqué par la société NOVO A/S permettant la production de 100 tonnes / jour de sirop de glucose.

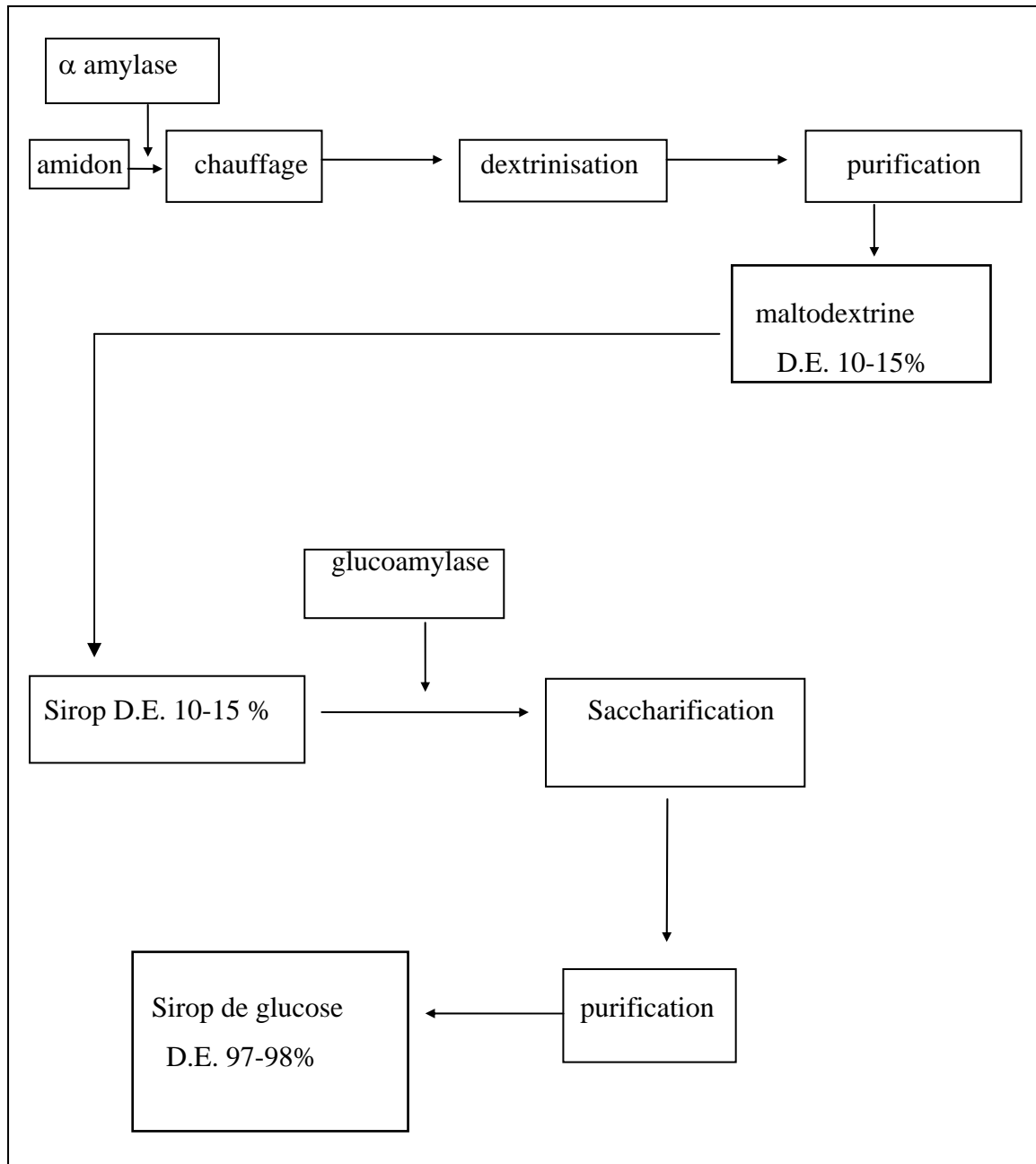


Figure 1.11: Schéma de traitement industriel de l'amidon par NOVO A/S [33].

► **Etape 1: Liquéfaction**

- Enzyme soluble : α amylase de *Bacillus licheniformis*
- 1,2 Kg par tonne d'amidon
- Concentration en amidon : 30 - 40 %
- pH : 5,5 - 6,5
- Température d'utilisation : 5 mn à 105°C puis 60 - 120 mn à 95°C
- Produit de D.E.: 10 - 15 %

► **Etape 2 : Saccharification**

- Enzyme soluble : Glucoamylase d'*Aspergillus niger*
- 1,5 l par tonne d'amidon
- Concentration en substrat: 30 - 40 %
- pH 4,5
- Température d'utilisation : 60°C pendant 48 H
- Produit de D.E.: 97 - 98 %

1.4.2. Caractérisations et identifications des produits d'hydrolyse :

1.4.2.1. Méthodes physiques :

i.) Par chromatographie sur couche mince:

Sur une plaque en verre recouverte d'une couche mince de gel de silice un système solvant (5 volumes d'acétone, 4 volumes d'acétate d'éthyle et 1 volume d'eau distillée) induit une migration des différents sucres présents à des vitesses différentes, ce qui conduit à leur séparation. La visualisation des spots après trois développements chromatographiques est effectuée en utilisant une solution d'acétone contenant le diphénylamine et l'aniline. La photodensimétrie permet la détermination quantitative.

ii) Par chromatographie liquide haute pression HPLC:

La rétention des molécules dépend des interactions hydrophobes qu'elles établissent avec la phase stationnaire apolaire. Plus la molécule sera hydrophobe, plus elle sera retenue par le support.

Le caractère hydrophobe des maltodextrines augmente avec le degré de polymérisation [35].

1.4.2.2. Méthodes chimiques:

i.) Par la réaction de SOMOGY et NELSON, [36]:

La solution à doser est portée à ébullition avec un excès de solution cupro-alkaline. L'oxyde cuivreux réagit avec l'arsénomolybdate pour donner une coloration bleu dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides réducteurs présents.

ii.) Par la réaction à la D.N.S:

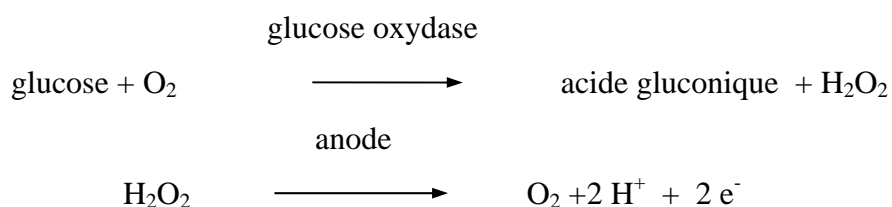
Cette méthode est basée sur la réaction colorée que donne le réactif au DNS (acide dinitro 3,5 salicylique) en présence de sucres réducteurs [37].

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu et mesurée par spectrophotométrie.

1.4.2.3. Méthode enzymatique:

i.) Par la réaction à la glucose oxydase:

Le principe du dosage est basé sur la détection ampérométrique d'eau oxygénée provenant de la dégradation du glucose. L'électrode à glucose (Tacussel) est composée d'une anode de platine sur laquelle est plaquée une membrane de collagène porteuse de glucose oxydase (immobilisée par la liaison covalente). La réaction de dosage se déroule en 2 temps et s'écrit:



Le potentiel de l'anode de platine est fixé à +650 mV par rapport à une cathode Ag/AgCl/KCl 0,1 M. Cette valeur correspond au courant limite de diffusion pour l'oxydation de l'eau oxygénée.

Pour effectuer une mesure, on plonge le corps de l'électrode (qui contient un faible volume de tampon acétate pH 5,5 0,2M/KCl 0,1M) dans une solution agitée de même tampon et à une température de 30°C. L'ajout de glucose provoque l'apparition d'un courant anodique dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucose introduite dans le milieu [38].

1.5. Intérêt des produits d'hydrolyse de l'amidon :

1.5.1. Production d'édulcorant par hydrogénation catalytique :

L'hydrogénation catalytique est utilisée pour convertir la fonction pseudo-aldéhyde de carbone C₁ terminal en groupement alcool secondaire. Elle entraîne l'ouverture du cycle pyranose, et génère des molécules appelées polyols.

Les polyols peuvent être classés selon leur structure chimique:

- Monosaccharides hydrogénés: sorbitols, mannitol, xylitol.
- Disaccharides hydrogénés: isomalt, maltitol, lactitol.
- Mélange d'oligosaccharides et de polysaccharides: sirop de glucose hydrogénés.

En France, l'arrêté du 4 juillet 1987 (J.O. du 24 juillet 1987) a autorisé l'emploi des polyols dans la fabrication des aliments destinés à une alimentation particulière, autre que celle destinés aux enfants et aux nourrissons. Cette autorisation s'applique à l'emploi des polyols dans tous les types d'aliments, à l'exclusion des boissons à saveur sucrée (figure 1.12).

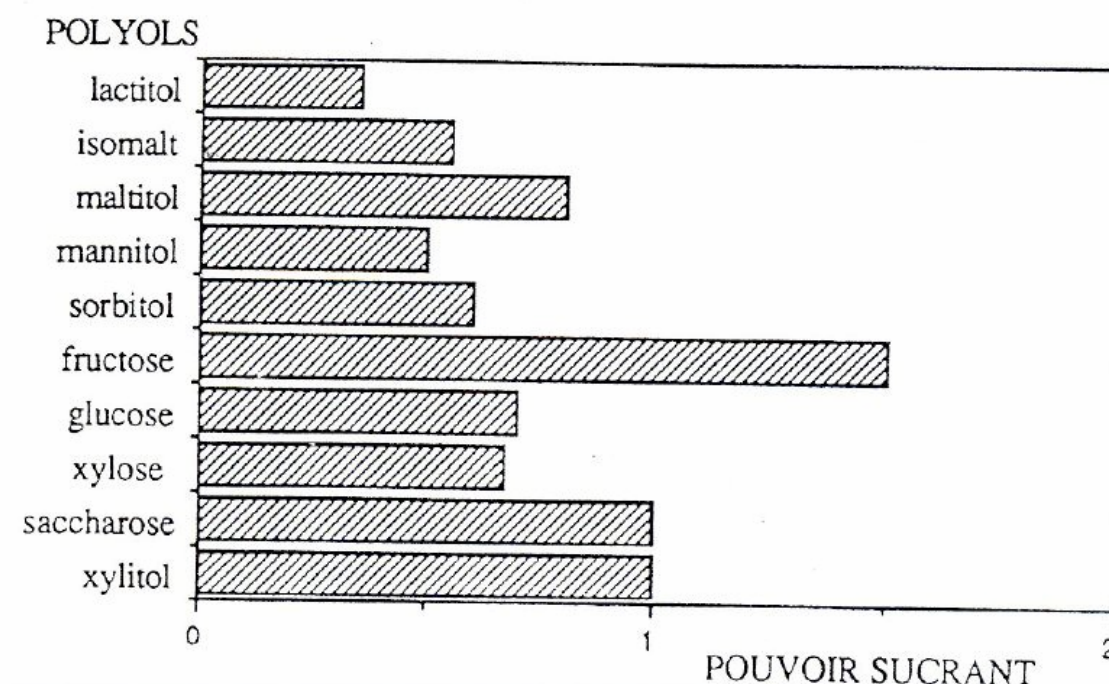


Figure 1.12: Comparaison du pouvoir sucrant de plusieurs sucres et polyols (le saccharose représentant l'unité)

1.5.1.1. Hydrogénation du D-glucose en D-sorbitol :

Le sorbitol est un alcool polyvalent saturé (figure 1.13), à l'état naturel, le sorbitol existe dans une grande variété de fruit murs. Actuellement on le prépare industriellement par hydrogénation catalytique du glucose, en présence de nickel de Raney [39].

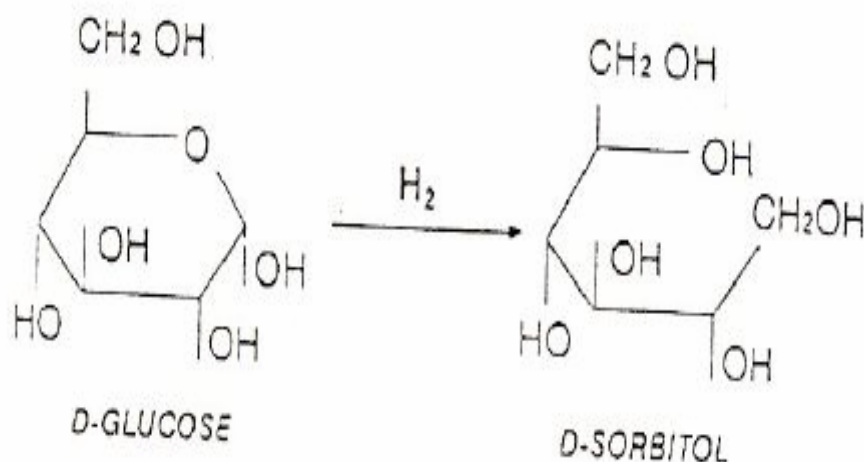


Figure 1.13: Hydrogénation du D-glucose.

Le procédé le plus courant consiste à hydrogéner le dextrose à pression élevée, en présence de nickel de Raney. La solution obtenue est purifiée sur colonne échangeuse d'ions et concentrée jusqu'à la teneur en sorbitol désirée. Le traitement des dextrans par l'hydrogène sous pressions et températures élevées, conduit au sorbitol par hydrogénolyse. L'hydrogénolyse d'un sirop de glucose commercial (D.E = 80,5 %) a été effectuée à 170°C et 60 atm de pression d'H₂ et pH = 3. Le pourcentage de sorbitol était de 89,89 % au bout de 2 heures d'hydrogénolyse et de 92,3 % après 3 heures [40].

Une autre méthode permet d'arriver au sorbitol par la réaction chimique de Cannizzaro en utilisant comme catalyseur le borohydrure de sodium NaBH₄ [41].

A l'état anhydre, le sorbitol se présente sous forme de poudre cristallisée blanche, de saveur sucrée. Son pouvoir sucrant est plus faible que celui du saccharose, la moitié environ. Il peut être utilisé dans les produits de régime destinés aux régimes hypoglucidiques (à condition que la quantité de sorbitol ajoutée ne dépasse pas 20 g dans 100 g de produits) et dans les produits de régime pour diabétique ne dépassant pas des doses de 20 g / jour.

La présence de six fonctions hydroxyles dans la molécule du sorbitol lui confère un caractère très hygroscopique, se traduisant par des propriétés émulsifiantes et hydrostabilisantes, d'où l'intérêt de son utilisation dans la fabrication de nombreux produits alimentaires (confiserie, pâtisserie, boissons, condiments...).

Le sorbitol est hexa-alcool (tableau 1.7) qui peut être utilisé comme édulcorant de masse dans l'industrie alimentaire [42] :

Tableau 1.7: Propriétés principales du sorbitol

Formule Brute	$C_6 H_{14} O_6$
Formule développée	$ \begin{array}{c} CH_2OH \\ \\ H - C - OH \\ \\ HO - C - H \\ \\ H - C - OH \\ \\ H - C - OH \\ \\ CH_2OH \end{array} $
Poids moléculaire:	182,18 g
Point de fusion :	D: 110°C; L: 77°C
Point d'ébullition:	295°C
Densité ;	1,489
Pouvoir sucrant:	0,55
Solubilité dans l'eau à 20°C:	220 g / 100ml 80 g / 100g de solution $[\alpha]_D^{20} = - 1,5^\circ$

1.5.2. Intérêt pharmaceutique du sorbitol :

1.5.2.1. Le diabète :

Historiquement, la première application a été mise au point pour lutter contre le diabète (insuffisance quantitative ou qualitative d'insuline qui atteint 2% de la population). En effet l'organisme a besoin de l'insuline pour assimiler les sucres classiques (saccharose, glucose...) et une alimentation riche en sucres provoque, chez les diabétiques, une attaque des organes producteurs d'insuline avec des liaisons irréversibles.

De nombreux produits de substitution des sucres ont été mis sur le marché mais depuis quelques années les cyclamates et la saccharine sont remis en cause et remplacés par le sorbitol.

1.5.2.2. L'obésité, les maladies cardio-vasculaires :

Dans les pays industrialisés, le sucre apporte 20 à 30 % des calories alors qu'il ne devrait dépasser les 10 % selon les autorités de la santé publique.

Une consommation trop importante de sucres et/ou de féculants, favorise un excès de graisses dans le sang et, par la suite, des maladies cardiaques. C'est une des raisons pour lesquelles, le sorbitol est utilisé comme agent dans l'alimentation diététique humaine [43].

1.5.2.3 L'action du sorbitol sur les caries dentaires :

Le sorbitol est un polyol qui a la principale caractéristique d'être un édulcorant non cariogène. Lors de la consommation l'abaissement du pH de la salive est considérablement réduit par rapport à celui d'autres glucides; il ne descend pas en dessous de 5,7, valeur critique pour la formation des caries dentaires.

1.5.2.4. Digestion, absorption des polyols: incidence nutritionnelle:

Les sucres-alcools sont faiblement absorbés dans l'intestin grêle. Ces monosaccharides hydrogénés, absorbés en faible quantité, sont alors retrouvés dans les urines, car ils sont peu ou pas métabolisés par l'organisme. Les polyols sont néanmoins fermentés par la flore colique. Ils se transforment principalement en acides gras volatils hydrosolubles (propionique et butyrique), en acide acétique et en lactates (D,L) [44]. Ce faible coefficient d'absorption dans l'intestin grêle est néanmoins augmenté, pour certains polyols, lorsqu'ils sont ingérés avec d'autres nutriments, en particulier le glucose.

L'étiquetage des denrées renfermant des polyols doit comporter les recommandations suivantes:

- ne pas donner aux enfants de moins de 3 ans.

- une consommation journalière excessive peut entraîner des troubles gastro-intestinaux sans gravité [45].

1.5.3. Classification des édulcorants :

Les molécules doués de pouvoir sucrant sont fort nombreuses. On les appelle les édulcorants. La classification habituellement retenue est la suivante:

1.5.3.1. Edulcorants naturels :

- Monosaccharides: Glucose, fructose, galactose.
- Disaccharides: Saccharose, lactose, maltose.

Les monosaccharides et les disaccharides sont largement présents dans les produits laitiers, les fruits, les légumes. Le saccharose est extrait de la betterave ou de la canne à sucre. Il est utilisé comme agent de conservation, agent texturant, agent de réaction colorée.

1.5.3.2. Edulcorants nutritifs, dérivés de produits naturels :

- Produits issus de l'amidon: Glucose, sirop de glucose, isoglucose.
- Produits issus du saccharose: Sucre inverti.
- Sucres-alcools ou polyols: Sorbitols, mannitol, xylitol, isomalt, maltitol, lactitol, sirop de glucose hydrogéné.
- Néosucres: Fructo-oligosaccharides.

1.5.3.3. Edulcorants intenses:

- Edulcorants chimiques (édulcorants de synthèse ou édulcorants artificiels): Aspartame, acésulfame, saccharine, cyclamate, alitame, sucralose.
- Edulcorants intenses d'origine végétale: thaumatine, stéviolside, monelline, dihydrochalcones, glycyrrhizine [46].

1.5.3.4. Edulcorants de charges massiques:

Les polyols sont des sucres-alcools, désignés sous le terme générique d'édulcorants de charge. Cette dénomination fait référence à l'effet de masse apporté par ces édulcorants (comparable à celui du saccharose), largement mis à profit en technologie alimentaire [47].

Les polyols constituent une classe homogène d'édulcorants possédant en commun un ensemble de caractéristiques:

- Présents dans la nature, leur extraction n'est pas rentable; ils sont obtenus par

hydrogénation de différentes matières amylacées ou du saccharose.

- Leur pouvoir sucrant est généralement plus faible que celui du saccharose. Ils présentent une chaleur de dissolution négative plus forte que celui du saccharose et ainsi donnent en bouche une sensation de fraîcheur (cooling-effect).
- Leur valeur énergétique théorique est identique à celle du saccharose. Néanmoins, la valeur énergétique réelle est égale ou inférieure à celle des glucides, du fait de leur malabsorption partielle et de leur métabolisme colique.
- Fait intéressant: ils ne sont pas carbogènes.
- Ils modifient peu la glycémie et l'insulinémie.
- Consommés en quantité supérieure à 40 g par jour, ils peuvent provoquer flatulences et/ou diarrhées.

Il est possible de tirer parti des propriétés physico-chimiques des polyols pour réaliser des articles « sans sucre » de qualité identique à leurs correspondants traditionnels. Ceci explique l'impressionnant progrès de la confiserie aux polyols dans l'ensemble du monde car ces derniers possèdent du point de vue nutritionnel les avantages suivants :

- Ils sont garantis non-cariogènes : ils permettent d'obtenir des produits ménageant les dents.
- Leur valeur énergétique à 2,4 Kcal/g représente une réduction de 40 % par rapport celle des sucres.
- Les confiseries traditionnelles réclament l'emploi de sucres cristallins et de liquides anticristallisants (sirops de glucose). Les confiseries sans sucres nécessitent l'emploi d'édulcorants cristallisés et d'anticristallisants. L'éventail des polyols cristallisés et Liquides anticristallisants permet de fabriquer des produits finis de première qualité.

Le tableau 1.8 résume les principales propriétés de quelques sucres et polyols issus de l'amidon.

Tableau 1.8: Principales propriétés de quelques sucres et polyols en application alimentaire [32].

POLYOLS	Propriétés fonctionnelles	Propriétés Nutritionnelles			
		Valeur calorique (Kcal/g)	Index glycémique	Aspect dentaire	Saveur sucré
Sorbitol cristallisée	*effet rafraîchissant *effet cryoprotecteur	2,4	20	N.A.	0,6
Sorbitol liquide	*cristallisation en surface *agent humectant	2,4	20	N.A.	0,6
Maltitol	*saveur sucrée élevée *aptitude à la cristallisation *non hygroscopicité	2,4	25	N.A.	0,9
Mannitol	*non hygroscopicité	2,4	20	NA	0,4
Xylitol	*saveur sucrée élevée *effet de fraîcheur *bonne solubilité	2,4	20	N.A.	1
Dextrose	*saveur sucré *effet rafraîchissant *aptitude à la cristallisation *agent de brunissement	4	100	A	0,7
Fructose	* saveur sucrée élevée *brunissement *solubilité élevée	4	20	A	1,3

*N.A. : Non acidogène, c'est-à-dire « Bon pour les dents »

*A : Acidogène.

Le caractère non-cariogène des polyols est certainement la propriété qui, de loin, a été la plus étudiée. Les polyols ne sont pas ou très peu fermentés par la flore cariogène de la

cavité buccale: il n'y a pas ou peu de formation d'acide et, par conséquent, pas d'attaque de l'émail dentaire.

Il en ressort, à travers des différentes études épidémiologiques, que le remplacement du saccharose et autres sucres fermentescibles par des polyols peut être considéré comme un facteur contribuant à la diminution de la carie, au même titre que l'hygiène bucco-dentaire et la prophylaxie par le fluor.

Qu'ils soient sucres ou polyols, les édulcorants issus de l'amidon jouent un rôle fondamental dans l'élaboration de nombreux aliments ayant en commun un goût sucré et la principale caractéristique de satisfaire notre plaisir. Leurs caractéristiques nutritionnelles permettent d'apporter énergie et/ou paramètre de forme et de santé [48].

La connaissance et l'exploitation de leurs propriétés physico-chimiques permettent d'affiner les formules et paramètres de fabrication. L'industrie amidonnière peut aussi fournir aux diverses industries alimentaires un support de choix dans l'élaboration de leurs nouveaux produits et l'amélioration de la qualité ou du coût de produits ayant déjà faits leurs preuves.

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES D'ANALYSES

2.1. Présentation de la matière première :

L'amidon de maïs produit par l'unité de Maïserie de Maghnia provient d'un maïs standard de catégorie et de qualité internationale.

Le grain de maïs doit être entier exempt de micro-organisme vivant et autre substance toxique, il ne doit être ni sur séché, ni moisi et doit être inférieur au moins à 2 ans d'âge.

D'après DE HAUSS [49], le rendement d'extraction dépend de la matière première et des équipements utilisées (tableau 2.1) :

Tableau 2.1 : Composition du maïs entrant et rendements d'extraction

	% du maïs entrant	% en matière sèche
Humidité	13	
Amidon	62	71
Protéine	9	10,5
Huiles	4	4,5
Fibres	8	9,5
Cendres	4	4,5
Sur 100% de matière sèche on récupère		
Amidon	67 % (soit 94 % de l'amidon entrant)	
Protéines	6,5 %	
Huiles	7 %	
Fibres	11,5 %	
Matière sèche des eaux de trempé	6,5 %	
Pertes	1,5 %	

2.2. Hydrolyse de l'amidon de maïs :

L'étude de l'hydrolyse acide et enzymatique de l'amidon de maïs a été axée sur la cinétique des réactions en faisant varier les 2 paramètres température et pH et à la caractérisation des produits d'hydrolyse.

L'expérience consiste à suivre l'évolution du degré d'hydrolyse en fonction du temps en calculant la productivité du glucose en grammes par litre et par heure et de déterminer en fin de réaction le pourcentage en sucres par chromatographie liquide à haute pression.

2.2.1. Hydrolyse acide :

L'action conjuguée de l'acidité et de la température ($>100^{\circ}\text{C}$) permet une hydrolyse efficace. L'utilisation d'un acide minéral HCl permet d'obtenir des résultats satisfaisants, mais présents des inconvénients dus à la présence dans le milieu, après neutralisation, d'une quantité de sel minéraux difficiles à éliminer.

La production de sirop de glucose par voie acide à l'unité de Maghnia se fait à partir d'un lait d'amidon concentré à 40 % de matière sèche dans une solution d'HCl à $\text{pH} = 1,9-2$. La solution chauffée à 60°C passe à une température de 130°C avec un temps d'hydrolyse de 30 mn. Le sirop de glucose obtenu à un D.E (équivalent en dextrose) de 18 %.

2.2.1.1. Protocole de l'hydrolyse acide :

Pour suivre l'évolution de l'hydrolyse de l'amidon au laboratoire on a effectué les hydrolyses en présence d'acide chlorhydrique ($M_m = 36,46 \text{ g/mole}$ concentration à 36 % $d = 1,18$ PROLABO).

L'hydrolyse a été réalisée dans un ballon d'un litre plongé dans un bain-marie à bain d'huile et sous reflux afin de bien contrôler la température [50].

► **Mode opératoire:**

- On prépare des solutions de 2, 10, 20 et 40 g d'amidon de maïs qu'on dissout dans 1 litre d'une solution d'HCl .
- Nous avons effectué les hydrolyses à $\text{pH} : 4, 3 \text{ et } 2$ et à diverses températures 70, 90 et 120°C .
- L'agitation du milieu est réalisée avec un agitateur magnétique
- A chaque intervalle de temps on prélève 5 ml de la solution.

- On refroidit la solution à l'eau du robinet et on ajoute 0,1ml de Na₂CO₃ 1M pour la neutralisation de l'hydrolysât.
- Les solutions sont centrifugées puis filtrées. Les sucres contenus dans le filtrat sont dosés par la méthode chimique au D.N.S. Les résultats sont lus au spectrophotomètre à 540 nm et les concentrations de sucres réducteurs sont déduites de la gamme étalon.
- En fin de réaction la solution à 40 g/l d'amidon de maïs est analysée par HPLC.

Les différentes étapes pour l'analyse des sucres sont schématisées dans la figure 2.1.

2.2.2. Hydrolyse enzymatique :

L'hydrolyse enzymatique de l'amidon a été rendu possible industriellement grâce au développement d'enzymes adaptées et notamment de l'alpha amylase de *Bacillus licheniformis*. C'est une enzyme extrêmement thermostable modifiée par génie génétique. C'est une endo-amylase qui hydrolyse les liaisons 1,4-alpha-glucosidiques de l'amylose et de l'amylopectine [51]. L'amidon est ainsi rapidement dégradé en dextrans et oligosaccharides solubles. Elles permettent d'effectuer des réactions spécifiques minimisant la formation de sous-produits, d'où une amélioration des rendements de transformations et une grande maîtrise du spectre des sucres dans les hydrolysats [52].

2.2.2.1. Description de l'enzyme utilisée :

L'enzyme utilisée est une préparation enzymatique liquide contenant une α amylase extrêmement thermostable, exprimée et produite par une souche de *Bacillus licheniformis* modifiée par génie génétique. L'enzyme est une endo-amylase qui hydrolyse les liaisons 1,4-alpha-glucosidiques de l'amylose et de l'amylopectine. L'amidon est ainsi rapidement dégradé en dextrans et oligosaccharides solubles.

Elle est commercialisée actuellement sous le nom de **TERMAMYL** produit par la société NOVO NORDISK, elle est livrée sous le nom de **TERMAMYL 120 L** (Fiche produit, Enzyme Business).

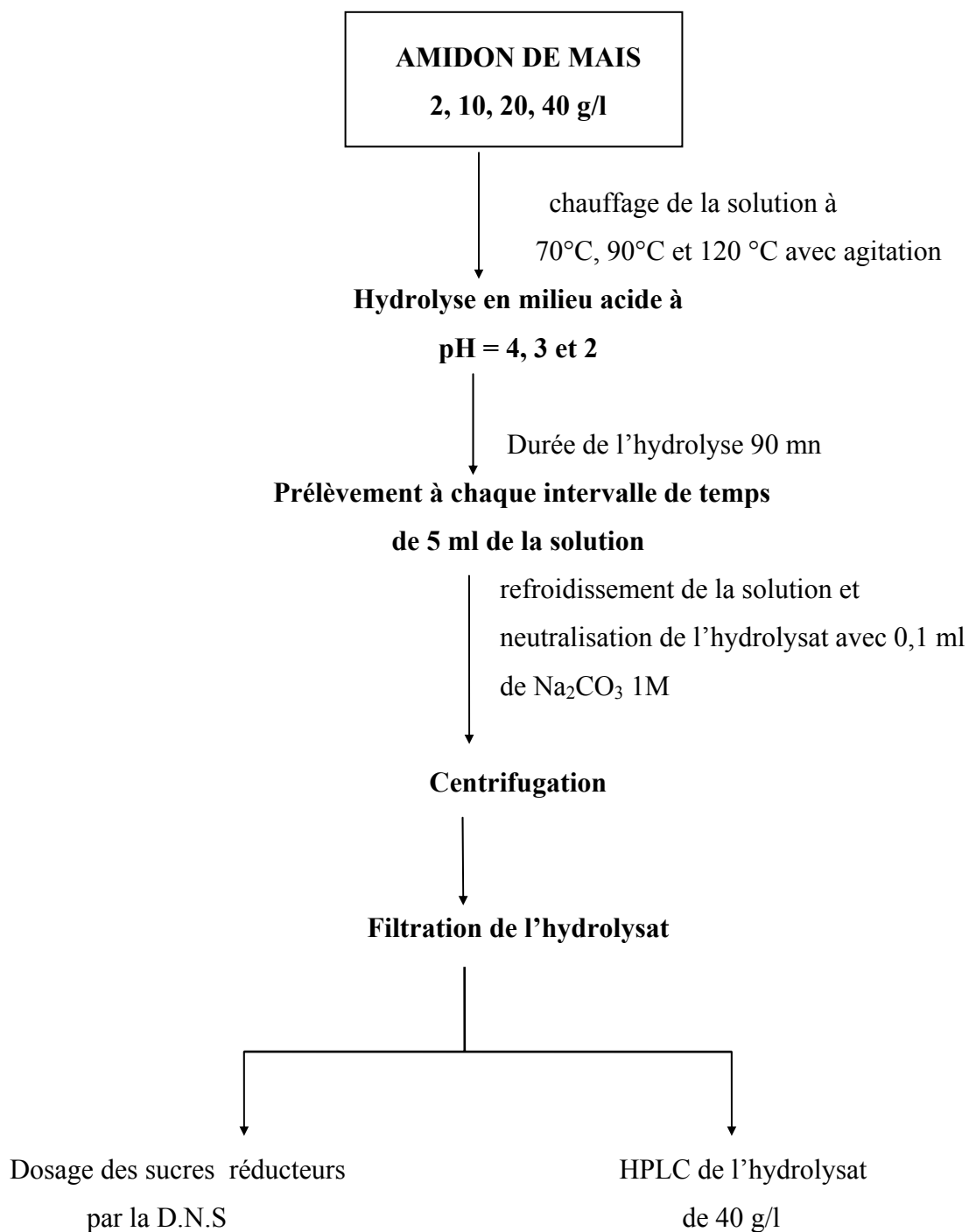


Figure 2.1: Schéma du protocole de l'hydrolyse acide de l'amidon

L'enzyme est conforme aux spécifications recommandées par la FAO/WHO JECFA et FCC pour les enzymes «food grade» (de qualité alimentaire). De plus, ils ont imposé des limites supérieures de $5 \cdot 10^4$ /g pour les germes totaux et de 10^2 pour les moisissures.

L'activité de l'enzyme est de 120 KNU / g. Un Kilo-Unité Novo alpha-amylase (1 KNU) est la quantité d'enzyme dégradant 5,26g d'amidon par heure sous les conditions standard suivantes:

- Substrat.....amidon soluble
- Teneur en calcium du solvant.....0,0043 M
- Temps de réaction.....7-20 min
- Température.....37°C
- pH.....5,6

Le tampon utilisé est une solution tampon acétate 0,1 M de PROLABO. La solution a été préparée à partir d'une solution de CH_3COONa 0,1 M qu'on ajuste le pH désiré de la solution tampon avec une solution de CH_3COOH 0,1 M.

2.2.2.2. Détermination de la température et du pH optimal pour l'hydrolyse enzymatique :

La manipulation consiste à hydrolyser une solution d'amidon de maïs provenant de l'unité de Maghnia préparée à partir de 10 g d'amidon dissout dans 1 litre de solution tampon acétate 0,1 M à différents pH, 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 et à des températures de 60, 70 et 90°C. Après avoir atteint la température désirée on introduit pour chaque solution $15,84 \cdot 10^{-3}$ g d'enzyme qui correspond à une quantité enzymatique de 1,9 KNU représentant le nombre de grammes d'enzyme nécessaire pour dégrader les 10g d'amidon de maïs.

Après 1 heure d'hydrolyse on prélève 5 ml de la solution et la réaction est arrêtée avec 0,1 ml d'HCl 1N. La solution refroidie est centrifugée puis filtrée. Les sucres réducteurs contenus dans les hydrolysats sont dosés par la méthode chimique au D.N.S.

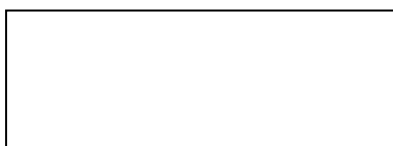
2.2.2.3. Protocole de l'hydrolyse enzymatique :

Après avoir déterminé la température et le pH optimum, l'hydrolyse de l'amidon est réalisée dans un réacteur d'un litre plongé dans un bain marie réglé à la température de 90°C. L'amidon de maïs est dissout dans une solution tampon acétate 0,1M à pH égal à 5,6.

► Mode opératoire :

- On prépare des solutions de 2, 10, 20 et 40 g d'amidon de maïs qu'on dissout dans un litre d'une solution tampon acétate.
- Lorsque la température s'est stabilisée à 90°C, on introduit $3,17 \cdot 10^{-3}$ g d'enzyme ce qui correspond à une quantité enzymatique de 0,38 KNU représentant le nombre de grammes d'enzyme nécessaire pour dégrader 2 g d'amidon de maïs.
- L'agitation du milieu est réalisée avec un agitateur à élice tournant à 250 trs/mn
- A chaque intervalle de temps on prélève 5 ml de la solution et on arrête la réaction avec 0,1 ml d'HCl 1N.
- Les solutions sont centrifugées puis filtrées Les sucres contenus dans le filtrat sont dosés par la méthode chimique au D.N.S.
- En fin réaction la solution à 40 g/l est analysée par HPLC.

On refait la même expérience en introduisant $63,37 \cdot 10^{-3}$ g d'enzyme correspondant à une quantité enzymatique de 7,6 KNU représentant le nombre de grammes d'enzyme nécessaire pour dégrader les 40 g d'amidon de maïs.



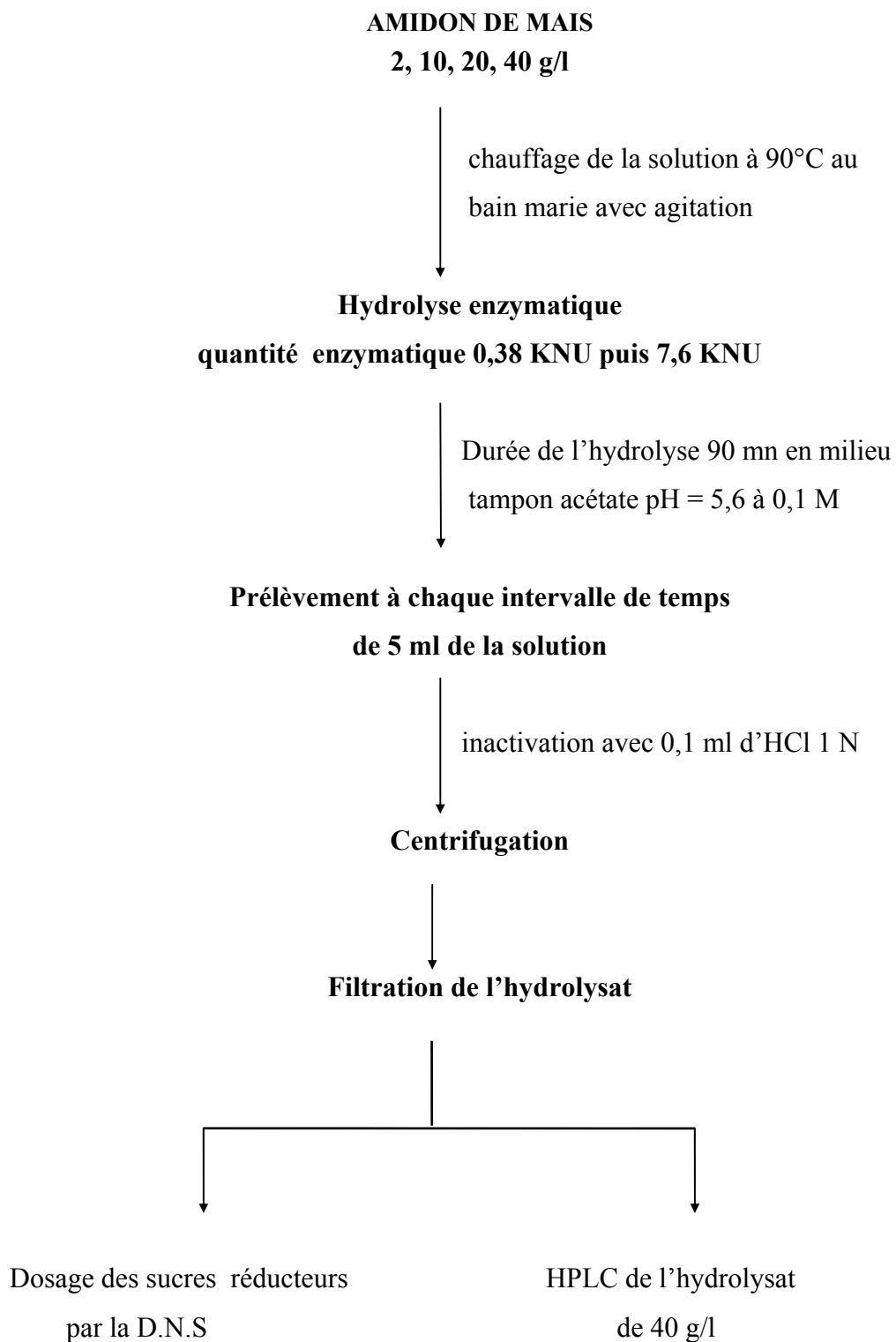


Figure 2.2: Schéma du protocole enzymatique de l'amidon

2.3. Hydrogénation des produits d'hydrolyse :

On introduit dans un réacteur en acier inox de capacité 0,5 litre et équipé d'un système d'agitation, 18 ml d'hydrolysats provenant de l'hydrolyse enzymatique de la solution à 40 g/l et 1,8 g du catalyseur le Nickel de Raney. Après fermeture de l'autoclave on injecte de l'hydrogène pur jusqu'à une pression de 6 bar puis on règle la température à 60°C. On était contraint à choisir ces 2 paramètres qui étaient le maximum de réglage pour l'autoclave. La réaction est arrêtée au bout de 48 heures lorsque la pression d'hydrogène est devenue constante. Le mélange réactionnel est alors filtré, puis analysé par HPLC.

L'appareil utilisé est du type Shimadzu équipé d'une colonne μ -bondapak C-18 et d'un détecteur UV-Visible réglé à une longueur d'onde λ égale à 235 nm.

- Phase mobile: MeOH / H₂O (70 / 30)
- Volume injecté 20 μ l

La figure 2.3 représente le standard du sorbitol avec un temps de rétention de 5 minutes.

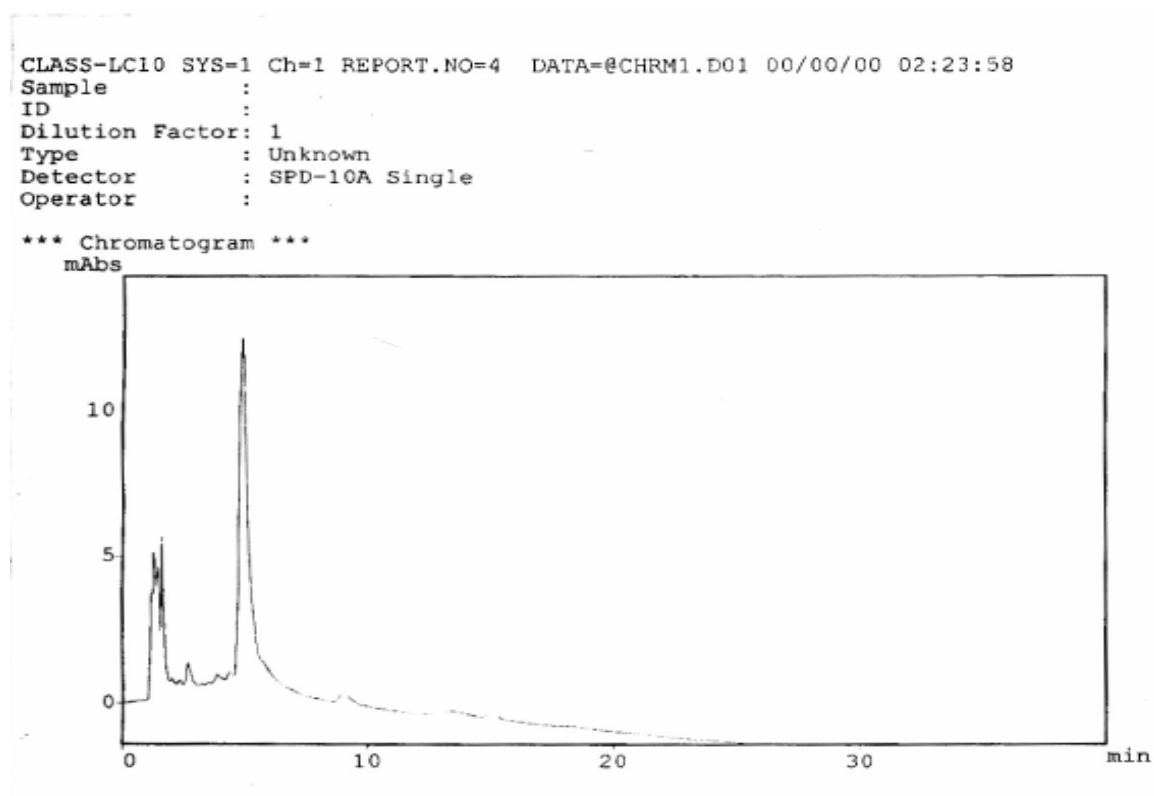


Figure 2.3: Chromatogramme standard du sorbitol

2.4. Contrôle physico-chimique et biochimique de l'amidon de maïs:

2.4.1. Détermination de la teneur en eau (humidité) :

La teneur en eau représente la quantité d'eau en g pour 100g de produits. Elle est déterminée sur 5 g d'amidon, après séchage dans une étuve à 130°C pendant 2 heures [53].

2.4.2. Détermination de la teneur en cendre :

La teneur en cendre est celle du produit obtenu après incinération de 5 g d'échantillon à 900°C pendant 2 heures [53].

2.4.3 Détermination de la teneur en protéines :

Le dosage des protéines est réalisée suivant la méthode de KJELDAHL. Le coefficient de conversion de l'azote en protéines est égal à 6,25 [53].

La transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium se fait sous l'action de l'acide sulfurique concentré à chaud et en présence d'un catalyseur approprié.

► Mode opératoire:

*** *Minéralisation sulfurique:***

On introduit dans le matras KJELDAHL 1 g d'amidon enroulé dans un papier filtre en présence de 2g de sulfate de sodium jouant le rôle de catalyseur.

On verse ensuite 20ml d' H_2SO_4 concentré à 95 %, puis on dispose le matras sur le KJELTEC (plaque chauffante) permettant l'aspiration des vapeurs sulfuriques.

*** *Distillation et alcalinisation:***

On verse dans le matras refroidi contenant le sulfate d'ammonium, 80 ml d'eau distillée, on dispose en parallèle dans l'appareil de distillation un erlenmeyer contenant 20 ml d' H_2SO_4 à 0,1 N et on actionne le système d'alcalinisation avec 40 ml de lessive de soude à 33 %.

L'ammoniac distillé est récupéré dans l'erlenmeyer contenant de l' H_2SO_4 à 0,1 N, on y ajoute quelques gouttes de phénophtaléine et on titre avec du NaOH à 0,1 N jusqu'au virage rose pâle persistant.

2.4.4 Détermination de la teneur en lipide :

La teneur en lipide est déterminée par extraction au soxhlet à l'éther de pétrole pendant 6 heures [53].

► **Mode opératoire:**

10 g d'amidon sont pesés puis mis dans la cartouche de l'extracteur (soxhlet). Dans un ballon préalablement pesé puis séché, on verse 200 ml d'éther de pétrole. On adapte le ballon à l'appareil, puis on conduit le chauffage dans les conditions telles que le débit de reflux soit d'au moins 3 gouttes à la seconde (ébullition moyenne).

Après une extraction de 6 h on laisse refroidir, on enlève la cartouche de l'extracteur et par distillation au rotavapor on élimine la totalité du solvant dans le ballon, on laisse refroidir le ballon dans un dessiccateur puis on pèse.

2.4.5 Détermination de la teneur en amidon :

La teneur en amidon est déterminée par la méthode polarimétrique [54].

L'amidon est dispersé par traitement de 2,5 g d'échantillon à chaud par 25 ml d'acide chlorhydrique à 1,28 %. Les substances protéiques dissoutes par la solution Carrez (I et II) sont précipitées puis éliminées par filtration.

On mesure alors le pouvoir rotatoire de la solution d'amidon dans le filtrat et on en déduit par calcul la teneur en amidon.

2.5. Caractérisation des produits d'hydrolyse :

Parmi les différentes méthodes de dosage du glucose on a utilisé:

- méthodes chimiques au D.N.S.
- chromatographie liquide.

2.5.1 Méthode chimique :

Nous avons choisi la méthode chimique au D.N.S. pour sa simplicité de mise en œuvre et sa fiabilité.

► **Principe:**

Cette méthode est basée sur la réaction colorée que donne le réactif au D.N.S. (Acide 3,5 dinitrosalicylique) en présence de sucres réducteurs.

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu et mesurée par spectrophotométrie.

Préparation du réactif:

-	Acide 3,5 dinitrosalicylique	10 g / l
-	NaOH	16 g / l
-	Tartrate double de Na ⁺ , K ⁺	300 g / l

► **Mode opératoire**

- 1 ml de prélèvement plus 1 ml de réactif le tout chauffage pendant 5 minutes jusqu'à ébullition.
- Arrêt de la réaction dans de la glace fondue.
- Dilution par 10 ml d'eau distillée.
- Lecture à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre visible type SPECOL avec une cuve en quartz contre un blanc après 30 minutes.

Une courbe d'étalonnage est réalisée à l'aide de solutions de glucose de concentrations comprises entre 0,1 et 2 g / l. La pente de la droite représentant l'absorbance en fonction de la concentration de glucose permet d'obtenir directement la teneur en sucres des différents échantillons en g.l⁻¹ d'équivalent glucose (figure 2.4).

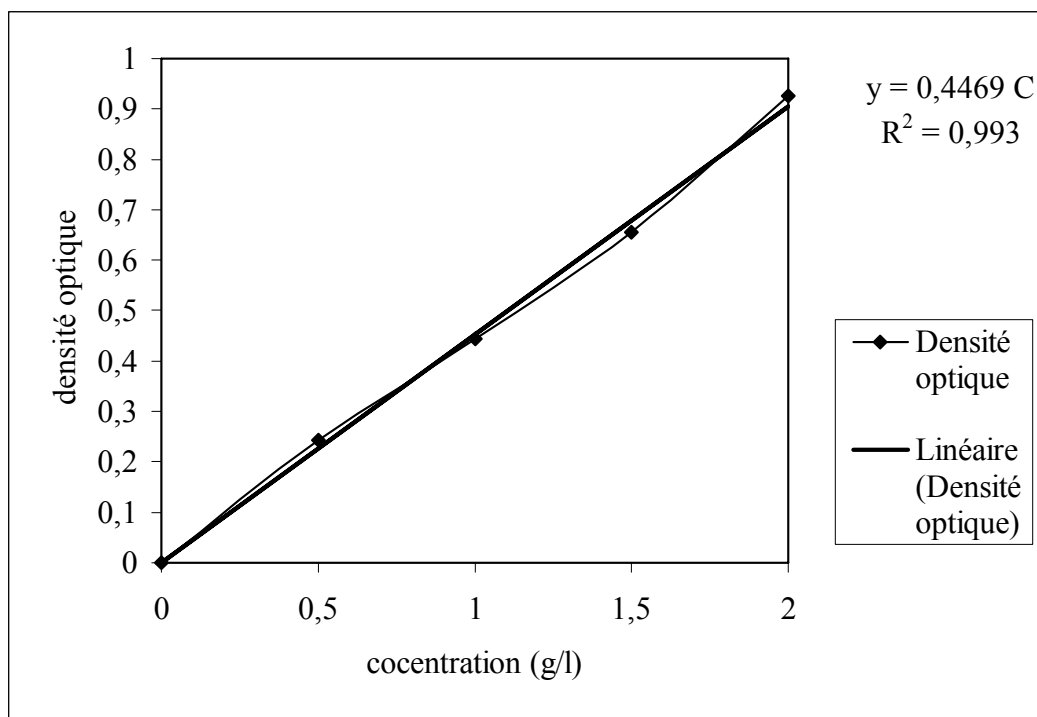


Figure 2.4: Courbe d'étalonnage de la solution de glucose

2.5.2. Méthode par Chromatographie liquide haute pression :

L'appareil utilisé est du type Waters Associates équipé d'une colonne μ -bondapak – NH_2 de diamètre 2,5 cm x 4,6 cm d'un réfractomètre différentiel d'une pompe Waters 501 et d'injecteur type Rhéodine 712 V avec un débit de 2,5 ml / mn.

► **Mode opératoire:**

- Dilution des échantillons 1g dans 20 ml d'eau distillée
- Filtration de la solution ainsi obtenue à l'aide d'un papier filtre de 0,45 μm et dégazer.
- Volume injecté 20 μl avec une seringue Hamilton de 25 μl
- Solvant utilisé Acétonitrile / eau (75 / 25).
- Standard:
 - Glucose : 0,60 g / 20 ml
 - Maltose : 0,42 g / 20 ml.

► Expression des résultats :

Les temps de rétention obtenus sont exploités pour l'identification de chaque sucre. Les hauteurs des pics serviront au calcul de la quantité de chaque sucre d'après l'expression suivante :

$$\text{Wt \% sucre} = 100 \times (\text{He} / \text{Hs}) \times (\text{Ve} / \text{Vs}) \times (\text{Ms} / \text{Me})$$

où:

He = hauteur du pic correspondant au sucre dans l'échantillon à analysé.

Hs = hauteur du pic correspondant au sucre dans la solution standard.

Ve = volume de la solution à analyser (20 ml).

Vs = volume de la solution standard (20 ml).

Me = masse de la prise d'essai à analyser (1g).

Ms = masse du sucre dans la solution standard (g).

La figure 2.5 nous donne le chromatogramme du mélange standard avec un temps de rétention du glucose égal à 7 minutes et celle du maltose égal à 11 minutes, le premier pic correspond au pic du solvant avec un temps de rétention de 3 minutes.

CLASS-LC10 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=0 DATA=@CHRM1.D01 27/10/02 09:12:17
Sample : Standard
ID :
Dilution Factor:
Type : Waters Associates
Detector : Refractif index
Operator :

*** Chromatogram ***

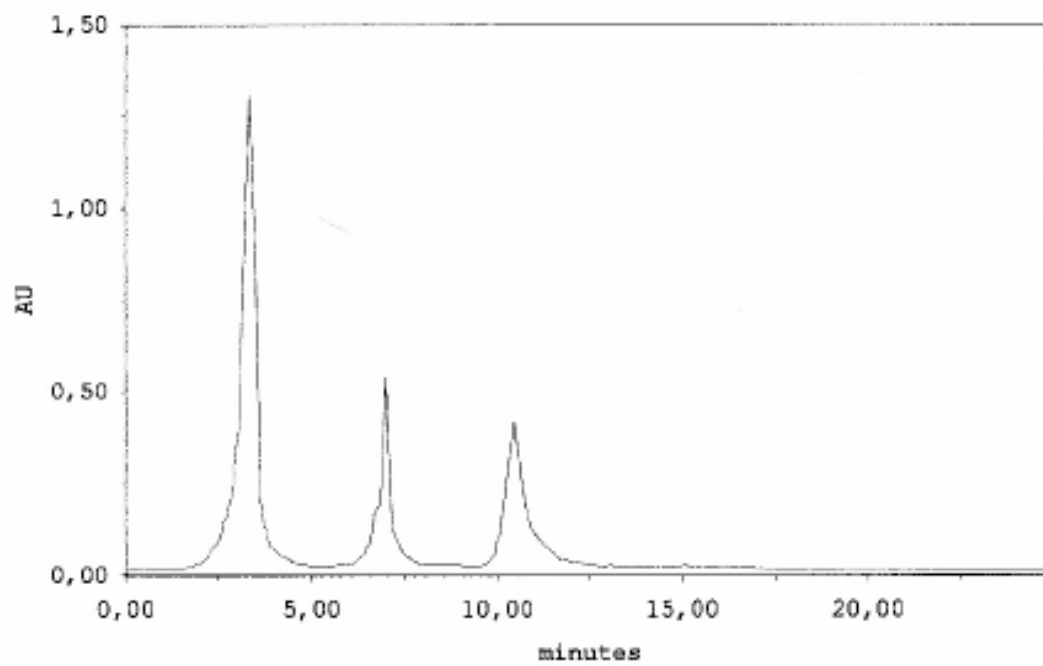


Figure 2.5: Chromatogramme du mélange standard

CHAPITRE 3

RESULTATS ET INTERPRETATION DES RESULTATS

3.1. Origine du maïs :

La matière première utilisée dans notre expérimentation est constituée du maïs importé par l'unité de Maghnia du type U.S.Yellow Corn N°2 de couleur jaune et d'un aspect farineux.

3.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'amidon de maïs:

Tableau 3.1: Résultats d'analyses physico-chimiques du maïs et de l'amidon de maïs

Caractéristiques	Maïs	Amidon de maïs
Humidité (%)	15	1,09
Cendre (% ms)	-	0,21
Protéines (% ms)	-	0,62
Lipides (% ms)	-	0,85
Teneur en amidon (% ms)	70	94
Teneur en amidon après extraction (% ms)	65	-

Le tableau ci-dessus donne les résultats des analyses physico-chimiques pratiqués sur le maïs et sur l'amidon de maïs. Ces résultats montrent que la composition physico-chimiques du Maïs utilisée par l'unité de Maghnia est proche de celle rapportée par DE HAUSS.

D'autre part, l'amidon de maïs est caractérisé par une fraction non glucidique de l'ordre de 1,68 % de la composition chimiques totale de l'amidon, cette fraction est proche à la norme en vigueur (0,5 à 2 %) [9].

De plus, et d'après ces résultats, on estime que notre amidon est de bonne qualité, une teneur de 94 % en amidon nous montre une bonne séparation amidon-protéine. Cette teneur constitue la finalité du process et sur laquelle se juge la qualité du maïs, tant au plan de la quantité d'amidon recueillie, que de sa pureté.

La valeur d'utilisation du maïs se base surtout sur la présence essentiel de l'amidon qui joue un rôle fondamental à côté des protéines.

3.3. Résultats de l'hydrolyse acide :

3.3.1. Effet de la température et du pH sur l'hydrolyse acide de l'amidon de maïs:

L'hydrolyse réalisée à partir des solutions d'amidon de maïs de 2, 10, 20 et 40 g/l correspondant à des concentrations en amidon de 0,2 %, 1 %, 2 % et 4 % a été effectuée à pH 4, 3 et 2 et à des températures de 70, 90 et 120°C.

3.3.1.1. Hydrolyse acide à la température de 70°C et pH = 4 :

Les résultats regroupés dans le tableau 3.2 donnent la production en équivalents glucose au bout d'une heure d'hydrolyse.

Tableau 3.2: Production en g/l/h d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 70°C et pH 4.

Solutions	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
Production en g/l/h d'équivalents glucose	0,016	0,026	0,044	0,052
Rendement de l'hydrolyse (%)	0,8	0,26	0,21	0,13
Equation de corrélation C (g/l), t (mn)	$C=7,45610^{-5} t^{1,36}$	$C=0,17910^{-3} t^{1,28}$	$C=0,25810^{-3} t^{1,30}$	$C=0,38610^{-3} t^{1,25}$
Ecart type	0,707	0,734	0,735	0,696
Coefficient de corrélation	0,893	0,873	0,876	0,880

Ces résultats montrent qu'à cette température l'hydrolyse de l'amidon se fait difficilement. La production en g/l/h d'équivalents glucose a varié très faiblement (de 0,016 à 0,052 g/l) selon la teneur en amidon de notre solution. Ce faible taux de dégradation de l'amidon est dû à la température qui est proche de la température de gélatinisation.

D'après LE LOUP *et al* [55] la gélatinisation de l'amidon est un phénomène essentiellement initié par un abaissement de la température, introduisant elle même une diminution de solubilité de polymères (tableau 3.3).

Tableau 3.3: Température de gélatinisation de quelques amidons

Type d'Amidon	Température de Gélatinisation
Maïs	62-70
Sorgho	68-78
Riz	51,5-59,5
Blé	59,5-64
Pomme de terre	58-66

D'autre part l'augmentation de la teneur en amidon est accompagnée d'une diminution du taux d'amidon dégradé. Cette observation est confirmée par nos résultats (de 0,8 à 0,13 %).

La production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à la température de 70°C et pH 4 est rassemblée dans le tableau 3.4.

Tableau 3.4: Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 70°C et pH 4 :

T (mn)	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
0	0	0	0	0
5	0,0002	0,0004	0,0006	0,0009
10	0,0033	0,0067	0,01	0,0133
15	0,0054	0,01	0,0149	0,0194
20	0,0067	0,013	0,0216	0,0283
30	0,01	0,018	0,0287	0,0365
40	0,0127	0,0231	0,0353	0,045
60	0,016	0,0264	0,0417	0,052
90	0,0173	0,0272	0,0436	0,054

L'évolution de la cinétique de l'hydrolyse acide à cette température est représentée dans la figure 3.1.

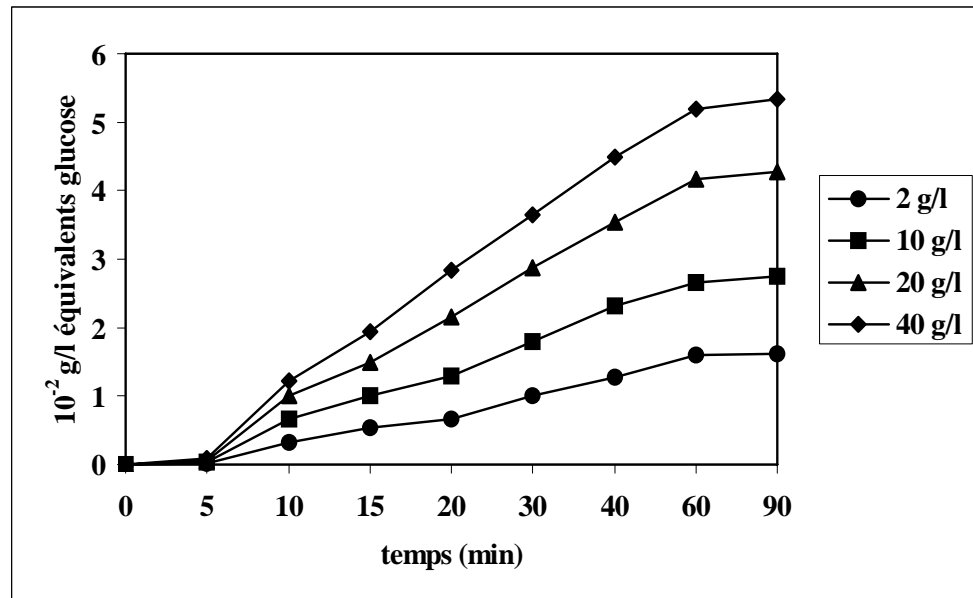


Figure 3.1: Evolution de l'hydrolyse acide à T = 70°C et pH = 4

On constate que durant les 5 premières minutes le pourcentage d'amidon dégradé est à peu près nul ce qui correspond à la montée de la température. De 5 à 60 minutes d'hydrolyse on obtient une faible teneur en équivalents glucose. Au de là de cette température et jusqu'à 90 minutes la teneur en équivalent glucose reste à peu près constant. Ce ci montre la difficulté d'hydrolyser l'amidon à cette température.

L'analyse chromatographique de l'hydrolysats de la solution d'amidon à 40 g/l (figure 3.2) nous donne 15,55 % en glucose et 26 % en maltose.

CLASS-LC10 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=1 DATA=@CHRM1.D01 15/12/02 09:41:58

Sample :
ID :
Dilution Factor:
Type : Waters Associates
Detector : Refractif index
Operator :

*** Chromatogram ***

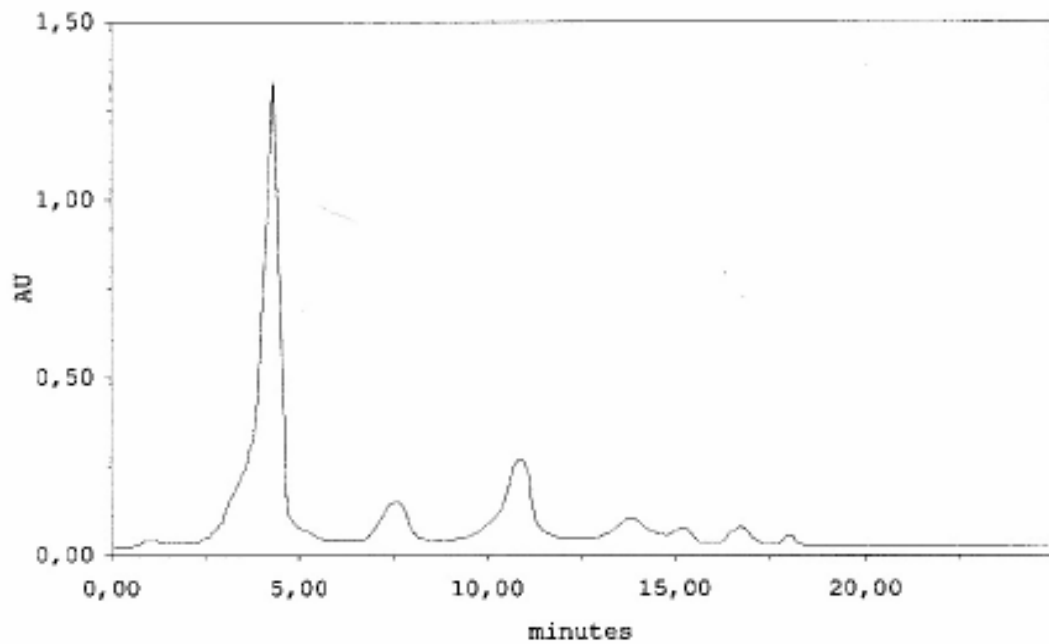


Figure 3.2: Chromatogramme de l'hydrolyse acide à T =70°C et pH=4
Solution d'amidon à 40 g/l

3.3.1.2. Hydrolyse acide à la température de 90°C et pH = 3 :

Les résultats regroupés dans le tableau 3.5 nous donnent la production en équivalents glucose après une heure d'hydrolyse.

Tableau 3.5: Production en g/l/h d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 90°C et pH 3.

Solutions	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
Production en g/l/h d'équivalents glucose	0,038	0,110	0,254	0,447
Rendement de l'hydrolyse (%)	1,9	1,10	1,27	1,12
Equation de corrélation C (g/l), t (mn)	$C=7,78510^{-5} t^{1,62}$	$C=0,45910^{-3} t^{1,47}$	$C=0,80810^{-3} t^{1,55}$	$C=1,04710^{-3} t^{1,63}$
Ecart type	1,377	1,451	1,615	1,678
Coefficient de corrélation	0,772	0,722	0,703	0,708

Ces résultats montrent une augmentation de la production d'équivalents glucose (de 0,038 à 0,0447 g/l) à cette température par rapport à la température précédente c'est à dire à 70 °C. De plus le rendement de l'hydrolyse a aussi augmenté (de 1,9 à 1,12 %) mais en diminuant par rapport à la teneur en amidon de maïs.

La production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température 90°C et pH 3 sont rassemblés dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6: Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 90°C et pH 3

T (mn)	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
0	0	0	0	0
5	0,0001	0,0004	0,0006	0,0008
10	0,012	0,06	0,17	0,263
15	0,023	0,085	0,208	0,361
20	0,025	0,094	0,22	0,404
30	0,029	0,105	0,234	0,424
40	0,031	0,105	0,246	0,44
60	0,038	0,11	0,254	0,447
90	0,038	0,11	0,263	0,453

L'évolution de la cinétique de l'hydrolyse acide à cette température est représentée dans la figure 3.3.

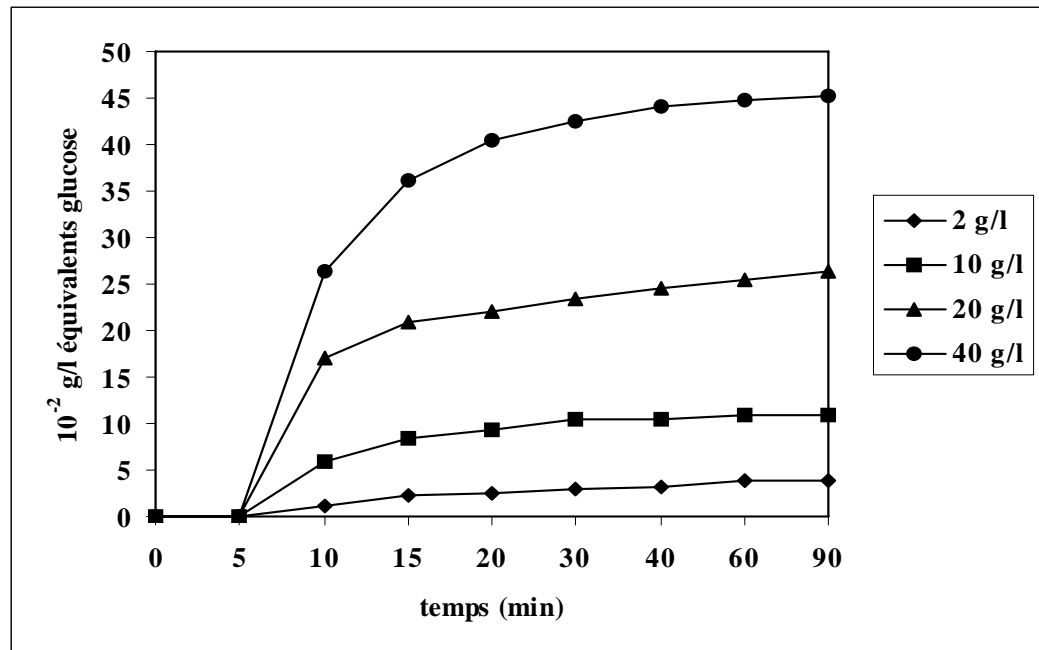


Figure 3.3: Evolution de l'hydrolyse acide à T = 90°C et pH = 3

On constate qu'entre 5 et 15 minutes le taux d'amidon dégradé est important puis il devient à peu près constant au bout de 90 minutes.

L'analyse chromatographique de l'hydrolysats de la solution d'amidon à 40 g/l (figure 3.4) nous donne 28,88 % en glucose et 36 % en maltose.

CLASS-1C10 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=2 DATA=@CHRM1.D01 15/12/02 10:29:12
Sample :
ID :
Dilution Factor:
Type : Waters Associates
Detector : Refractif index
Operator :

*** Chromatogram ***

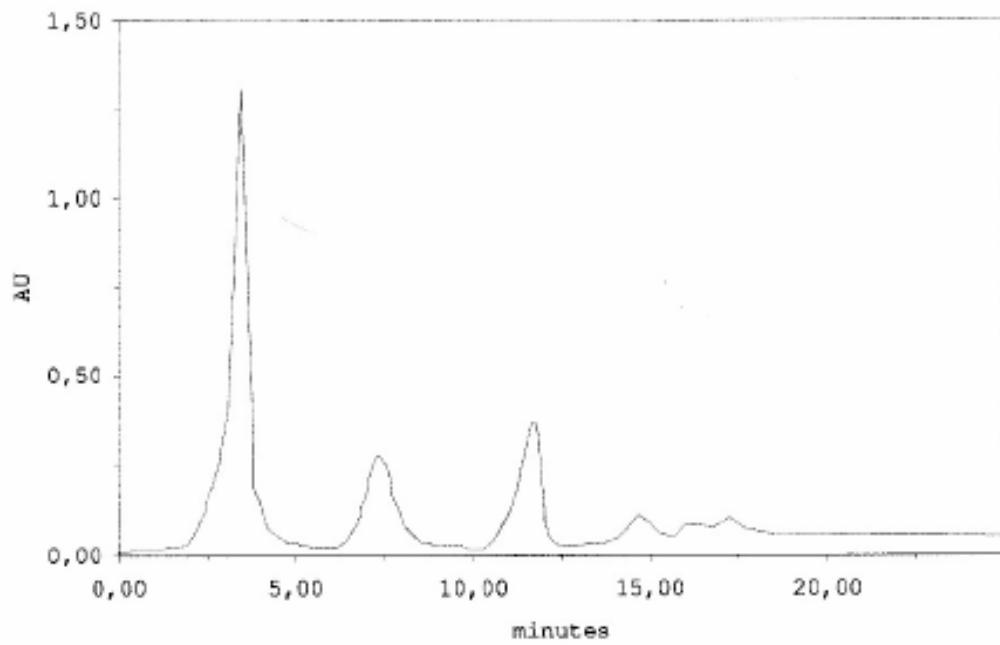


Figure 3.4: Chromatogramme de l'hydrolyse acide à T=90°C et pH=3
Solution d'amidon à 40 g/l

3.3.1.3. Hydrolyse acide à la température de 120°C et pH = 2 :

Les résultats regroupés dans le tableau 3.7 donnent la production en équivalents glucose après une heure d'hydrolyse.

Tableau 3.7: Production en g/l/h d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 120°C et pH 2.

Solutions	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
Production en g/l/h d'équivalents glucose	0,223	0,353	0,485	0,757
Rendement de l'hydrolyse (%)	11,15	3,53	2,43	1,89
Equation de corrélation C (g/l), t (mn)	$C=2,21610^{-3} t^{1,24}$	$C=4,88710^{-3} t^{1,15}$	$C=8,75210^{-3} t^{1,08}$	$C=11,80810^{-3} t^{1,13}$
Ecart type	1,209	1,191	1,137	1,205
Coefficient de corrélation	0,724	0,706	0,700	0,693

Pour une température de 120°C la production en g/l/h est importante par rapport aux 2 températures précédente (de 0,223 à 0,757 g/l) . Le rendement de l'hydrolyse a augmenté (de 11,5 à 1,89 %) mais en diminuant par rapport à la teneur en amidon de maïs.

La production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 120°C et pH 2 sont rassemblés dans le tableau 3.8.

Tableau 3.8: Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse acide à une température de 120°C et pH 2 :

T (mn)	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
0	0	0	0	0
5	0,002	0,004	0,007	0,009
10	0,144	0,254	0,385	0,6
15	0,169	0,301	0,402	0,674
20	0,186	0,325	0,443	0,708
30	0,2	0,334	0,457	0,728
40	0,216	0,347	0,487	0,752
60	0,223	0,353	0,485	0,757
90	0,231	0,364	0,492	0,772

L'évolution de la cinétique d'hydrolyse acide à cette température est représentée dans la figure 3.5 :

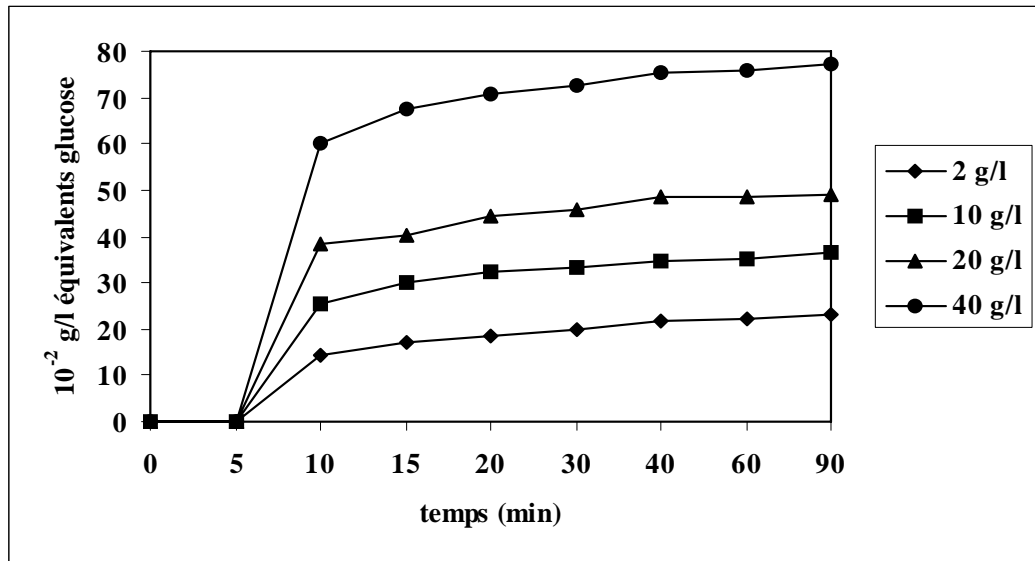


Figure 3.5: Evolution de l'hydrolyse acide à $T = 120^{\circ}\text{C}$ et $\text{pH} = 2$

On remarque qu'entre 5 et 10 minutes le taux d'amidon dégradé est important puis il devient à peu près constant au bout de 90 °C.

L'analyse chromatographique de l'hydrolysate de la solution d'amidon à 40 g/l (figure 3.6) nous donne 84,14 % en glucose et 13,36 % en maltose.

CLASS-LC10 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=3 DATA=@CHRM1.DO1 15/12/02 11:14:09
Sample :
ID :
Dilution Factor:
Type : Waters Associates
Detector : Refractif index
Operator :

*** Chromatogram ***

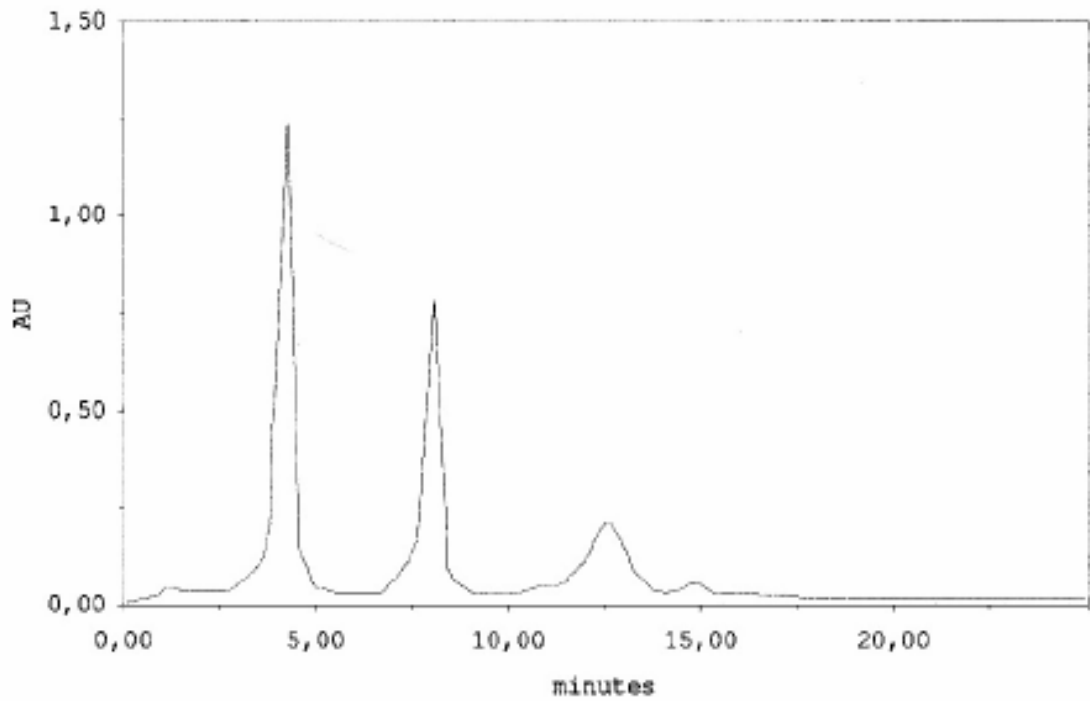


Figure 3.6: Chromatogramme de l'hydrolyse acide à T=120°C et pH=2
Solution d'amidon à 40 g/l

A partir de nos résultats on peut conclure que l'augmentation de la concentration en amidon de maïs est accompagnée par une diminution du taux d'amidon dégradé.

Nos résultats montrent aussi que l'augmentation de la température d'hydrolyse entraîne une augmentation du taux d'amidon dégradé. Le taux le plus élevé est de l'ordre de 11,25 % obtenu à la température de 120°C la teneur en amidon de 2 g/l.

Pour l'analyse chromatographique de l'hydrolysats des solutions d'amidon à 40 g/l, on remarque que l'augmentation de la température et la diminution du pH du milieu favorise la rupture des liaisons α [1-4] et α [1-6].

Dans l'industrie pour des raisons d'économie d'énergie, l'hydrolyse s'effectue avec des suspensions d'amidon dans la gamme 35-38 % d'extrait sec. Ceci traduit par des viscosités considérables lors de la gélatinisation. L'action de quelques traitements sur l'amidon de maïs est nécessaire pour l'amélioration du rendement de l'hydrolyse.

3.4. Résultats de l'hydrolyse enzymatique :

3.4.1. Détermination des paramètres optimum d'activité enzymatique:

La production en g/l/h d'équivalents glucose pour la détermination de la température et du pH optimum de l' α amylase pour l'hydrolyse enzymatique est regroupée dans le tableau 3.9 :

Tableau 3.9: Détermination de température et du pH optimum de l' α amylase.

pH	4,5	5	5,5	6	6,5
production d'équivalents glucose en g/l/h à T = 60°C	0,015	0,034	0,062	0,061	0,046
production d'équivalents glucose en g/l/h à T = 70°C	0,032	0,065	0,097	0,097	0,077
production d'équivalents glucose en g/l/h à T = 90°C	0,055	0,121	0,186	0,173	0,124

Les résultats ci-dessus montrent une augmentation de l'activité enzymatique d'intervalle de pH compris entre 4,5 et 6 aux températures considérées.

Au delà de pH = 6, on constate une diminution de cette activité enzymatique pour des températures de 60, 70 et 90°C. Les résultats précédents indique une production en équivalents glucose est maximum à pH = 5,6. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent que la température de 90°C correspond à la forte activité enzymatique quelque soit le pH considéré. Ces résultats reflètent l'allure donnée par les courbes de la figure 3.7.

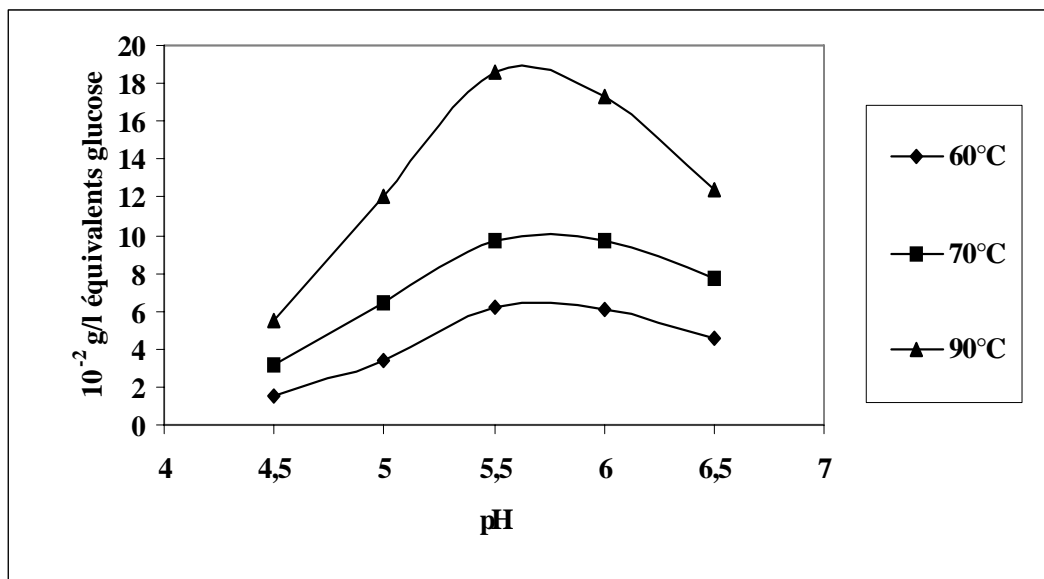


Figure 3.7: Température et pH optimal d'activité enzymatique.
Solution d'amidon à 10 g/l, activité enzymatique 1,9KNU

Nous constatons que l'optimum de l'activité amylasique de l' α amylase de *Bacillus licheniformis* laTERMAMYL 120L se situe à un pH de 5,6 et à une température de 90°C. Selon NOURI [56], la température optimum de l'enzyme *Bacillus licheniformis* est de l'ordre de 92°C tandis que l'alpha amylase de *Bacillus subtilis* est 70°C à pH égal (figure 3.8).

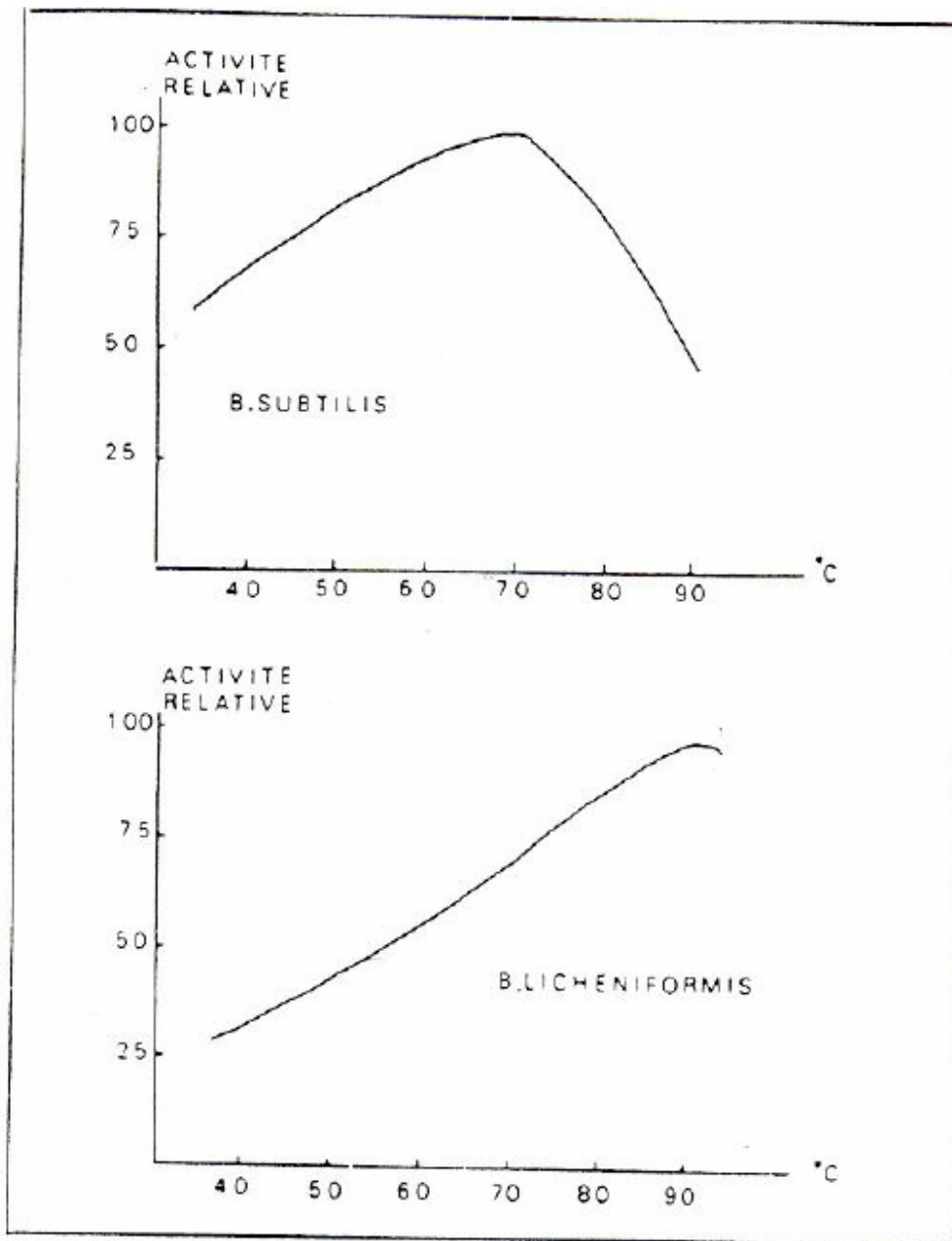


Figure 3.8: Influence de la température sur les 2 alpha-amylases, *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis*.

Suite à ces résultats, l'enzyme utilisée dans notre étude a été l'origine dans le développement de l'industrie à la fabrication des sirop de glucose [57] car elle a résolu tous les problèmes thermiques qui se présentaient au cours de l'hydrolyse acide..

3.4.2. Effet de la température et du pH sur l'hydrolyse enzymatique de l'amidon de maïs:

Après avoir déterminé le pH et la température optimum, l'hydrolyse enzymatique de l'amidon de maïs a été réalisée en préparant les mêmes solutions d'amidon de maïs que l'hydrolyse acide c'est à dire 2, 10, 20 et 40 g / l dans une solution tampon acétate à 0,1 M et pH=5,6. Pour cela nous avons hydrolysé les solutions d'amidon en appliquant une température de 90°C pendant 90 minutes, en présence de l' α amylase la TERMAMYL 120 L. L'amidon est transformé en dextrines.

Nous avons utilisé l'enzyme à 2 activités différentes. Une activité à 0,38 KNU pour dégrader la solution d'amidon à 2 g/l et une activité à 7,6 KNU pour dégrader la solution d'amidon à 40 g/l.

3.4.2.1. Hydrolyse enzymatique à une température de 90°C et pH 5,6 avec une quantité enzymatique de 0,38 KNU :

Tableau 3.10: Production d'équivalents glucose en g/l/h à 90°C et pH 5,6 activité enzymatique 0,38 KNU.

Solutions	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
Production en g/l/h d'équivalents glucose	0,201	0,275	0,352	0,435
Rendement de l'hydrolyse (%)	10,05	2,75	1,76	1,09
Equation de corrélation C (g/l), t (mn)	$C=127,3510^{-3}t^{0,12}$	$C=151,3910^{-3}t^{0,16}$	$C=192,5710^{-3}t^{0,16}$	$C=237,4310^{-3}t^{0,16}$
Ecart type	0,092	0,120	0,104	0,130
Coefficient de corrélation	0,803	0,806	0,840	0,788

Le tableau 3.10 représente la production en g/l d'équivalents glucose au bout d'une heure d'hydrolyse à 90°C en fonction de la quantité enzymatique introduite dans la solution:

Nous constatons une augmentation de la production d'équivalents glucose (de 0,201 à 0,435 g/l).

D'autre part, d'après nos résultats, l'augmentation de la teneur en amidon est accompagné d'une diminution du taux d'amidon dégradé (de 10,05 à 1,09 %).

La production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse enzymatique avec une activité enzymatique de 0,38 KNU est rassemblée dans le tableau 3.11.

Tableau 3.11 : Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse enzymatique à une température de 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 0,38 KNU

T (mn)	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
0	0,02	0,017	0,01	0,02
5	0,132	0,16	0,208	0,247
10	0,184	0,235	0,3	0,384
15	0,189	0,264	0,32	0,413
20	0,195	0,267	0,336	0,425
30	0,199	0,272	0,34	0,433
40	0,198	0,273	0,35	0,433
60	0,201	0,275	0,352	0,435
90	0,223	0,278	0,353	0,44

L'évolution de la cinétique de l'hydrolyse enzymatique avec une activité enzymatique de 0,38 KNU est représentée dans la figure 3.9.

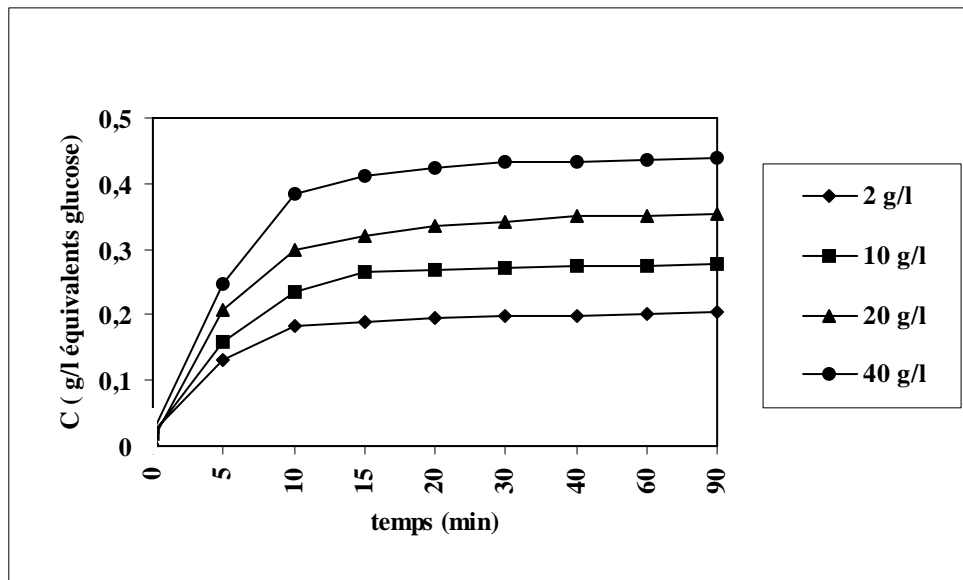


Figure 3.9: Hydrolyse enzymatique à T = 90°C et pH 5,6 activité enzymatique 0,38 KNU

On constate que le taux d'amidon dégradé se situe dans un intervalle de temps compris entre 0 et 10 minutes puis il devient constant à peu près au bout de 20 minutes.

L'analyse chromatographique de l'hydrolysat de la solution d'amidon à 40 g/l (figure 3.10) nous donne 31,11 % en glucose et 14 % en maltose.

```
CLASS-LC10 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=2 DATA=@CHRM1.D01 27/10/02 11:08:49
Sample      :
ID          :
Dilution Factor:
Type       : Waters Associates
Detector   : Refractif index
Operator    :
```

*** Chromatogram ***

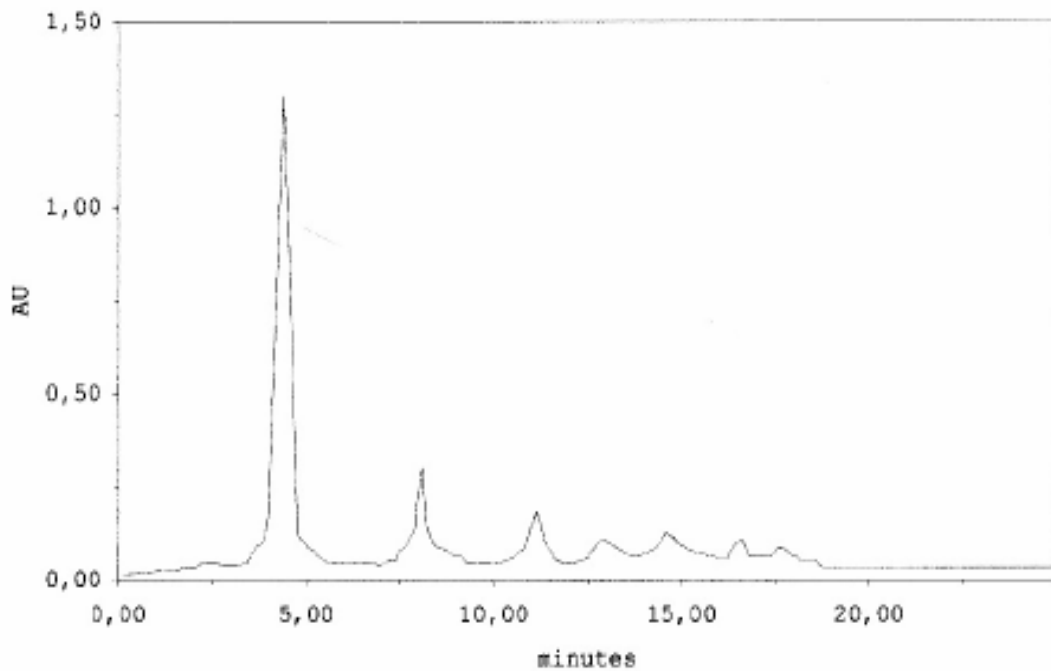


Figure 3.10 Chromatogramme des produits de l'hydrolyse enzymatique de la solution d'amidon à 40 g/l à T=90°C et pH 5,6, activité enzymatique 0,38 KNU

3.4.2.2. Hydrolyse enzymatique à une température de 90°C et pH 5,6 avec quantité enzymatique de 7,6KNU :

Tableau 3.12: Production d'équivalents glucose en g/l/h à T=90°C et pH 5,6 activité enzymatique 7,6 KNU.

Solutions	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
Production en g/l/h d'équivalents glucose	0,176	0,350	0,622	0,850
Rendement de l'hydrolyse (%)	8,8	3,5	3,11	2,13
Equation de corrélation C (g/l), t (mn)	$C=82,11710^{-3}t^{0,19}$	$C=222,09610^{-3}t^{0,11}$	$C=452,69110^{-3}t^{0,08}$	$C=633,32510^{-3}t^{0,08}$
Ecart type	0,070	0,049	0,049	0,053
Coefficient de corrélation	0,940	0,926	0,863	0,838

Le tableau ci-dessus représente la production en g/l d'équivalents glucose au bout d'une heure d'hydrolyse à 90°C en fonction de la quantité enzymatique introduite dans la solution. Nous constatons une augmentation de la production d'équivalents glucose (de 0,176 à 0,850 g/l). D'autre part, d'après nos résultats, l'augmentation de la teneur en amidon est accompagné d'une diminution du taux d'amidon dégradé (de 8,8 à 2,13 %). La production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse enzymatique avec une activité enzymatique de 7,6 KNU sont rassemblés dans la tableau 3.13.

Tableau 3.13: Production en g/l d'équivalents glucose de l'hydrolyse enzymatique à une température de 90°C et pH 5,6, activité enzymatique 7,6 KNU

T (mn)	2 g/l	10 g/l	20 g/l	40 g/l
0	0,01	0,018	0,02	0,017
5	0,107	0,251	0,475	0,66
10	0,117	0,291	0,57	0,78
15	0,14	0,308	0,592	0,832
20	0,16	0,336	0,592	0,843
30	0,165	0,34	0,604	0,847
40	0,165	0,347	0,62	0,849
60	0,176	0,35	0,622	0,85
90	0,176	0,352	0,623	0,868

L'évolution de la cinétique de l'hydrolyse enzymatique avec une activité enzymatique de 7,6 KNU est représentée dans la figure 3.11.

L'évolution de la cinétique de l'hydrolyse enzymatique avec une activité enzymatique de 7,6 KNU est représentée dans la figure 3.11.

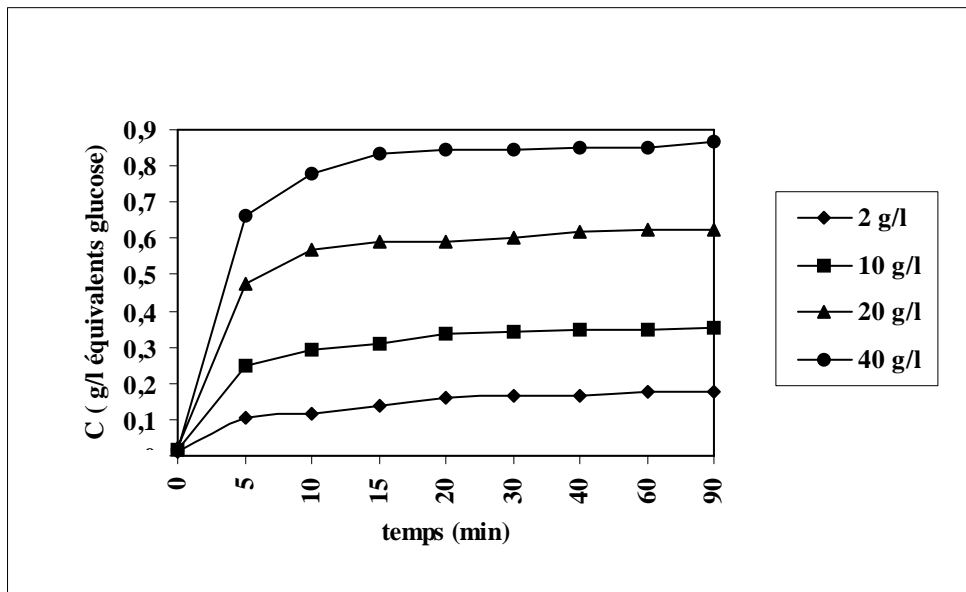


Figure 3.11: Hydrolyse enzymatique à $T = 90^{\circ}\text{C}$ et pH 5,6
activité enzymatique 7,6 KNU

On constate que le taux d'amidon dégradé se situe dans un intervalle de temps compris entre 0 et 5 minutes puis il devient constant à peu près au bout de 90 minutes.

L'analyse chromatographique de l'hydrolysate de la solution d'amidon à 40 g/l (figure 3.12) nous donne 51,11 % en glucose et 22 % en maltose.

CLASS-LC10 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=3 DATA=@CHRM1.D01 27/10/02 13:42:23

Sample :
ID :
Dilution Factor:
Type : Waters Associates
Detector : Refractif index
Operator :

*** Chromatogram ***

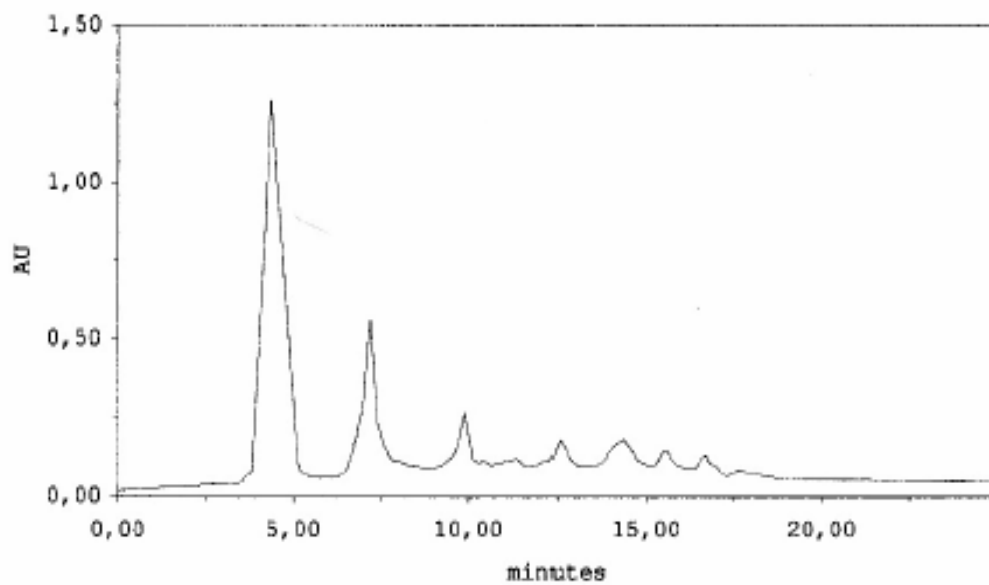


Figure 3.12: Chromatogramme des produits de l'hydrolyse enzymatique de la solution d'amidon à 40 g/l à T=90°C et pH 5,6, quantité enzymatique 7,6 KNU

Cette étude permet de distinguer selon ROBIN [23] deux phases correspondant aux deux principaux états d'organisation des chaînes dans l'amidon.

La première phase correspond à l'hydrolyse rapide de la fraction amorphe de l'amidon, la seconde beaucoup plus lente correspondrait à l'hydrolyse de la partie cristalline de l'amidon.

On constate ainsi que la production en glucose augmente lorsque la température augmente et le pH diminue pour l'hydrolyse acide. L'analyse chromatographique nous montre qu'une hydrolyse quasi-totale a été obtenue pour la solution à 40 g/l et pH 2, après une heure de traitement à 120°C.

Pour l'hydrolyse enzymatique la quantité enzymatique introduite dans la solution à 40 g/l nous a permis d'obtenir une production en glucose appréciable par rapport à l'hydrolyse acide.

Nos résultats sont confirmés par les expressions des équations de corrélations établies. A cet effet, la constante de vitesse observée sur nos équations montre que la vitesse d'hydrolyse est d'autant plus rapide que le coefficient est élevé. De plus, le coefficient de corrélation obtenu confirme la validité de nos corrélations pour les faibles concentrations.

3.5. Détermination des caractéristiques cinétiques sur l'amidon de maïs :

Cette étude va nous permettre de comparer la cinétique de dégradation de l'amidon de maïs à différentes températures pour l'hydrolyse acide et à différentes concentrations de l'enzyme pour l'hydrolyse enzymatique.

3.5.1 Etude cinétique de l'hydrolyse acide :

L'hydrolyse de la matière végétale se divise en trois étapes :

- Dans les premières minutes de chauffage, on constate la mise en solution d'oligosaccharides et une majorité de non-sucre.
- Dans la 2^{ème} phase la quantité de non-sucre passés en solution continue de croître mais les oligosaccharides sont transformés en monosaccharides.
- La 3^{ème} phase voit la dégradation des monomères.

3.5.2. Etude cinétique de l'hydrolyse enzymatique :

L'enzyme, comme tout catalyseur, accélère la vitesse de la réaction sans changer l'équilibre thermodynamique [58]. La collision entre le substrat et l'enzyme doit se faire à la fois dans une orientation correcte et avec une énergie d'activation suffisante [59].

Le modèle cinétique de Michaelis-Menten sert de base aux études cinétiques selon l'équation de vitesse suivante :

$$V = V_m[S] / K_m + [S]$$

Où

V = vitesse de disparition du substrat = $-dS/dt$ ou d'apparition du produit = dP/dt

V_m : vitesse maximale de réaction, elle correspond à une saturation de tous les sites actifs de l'enzyme.

K_m : constante de Michaelis-Menten, elle représente l'inverse de l'affinité de l'enzyme pour le substrat : plus K_m est petit plus l'affinité est grande.

[S] : concentration en substrat

V est une fonction hyperbolique de [S]

Pour déterminer les vitesses maximales V_m et les constantes de vitesses K_m , nous utilisons l'équation de Michaelis-Menten, transformée par Lineweaver-Burk et qui s'écrit :

$$1/V = 1/V_m + (K_m/V_m) \cdot 1/S$$

En portant les points expérimentaux sur la courbe $1/V = f[1/S]$, nous obtenons alors une droite, ce qui nous permet par extrapolation, de déterminer V_m et K_m .

$1/V_m$ est donné par l'intersection de la droite avec l'axe des ordonnées et $-1/K_m$ par l'intersection avec l'axe des abscisses ou par la pente de la droite qui nous donne K_m/V_m .

Pour l'hydrolyse acide la constante de vitesse est donnée par la pente de la droite

$\text{Log } C = f(t)$ [60].

La vitesse de l'hydrolyse est calculer pour les deux cas en multipliant la concentration en équivalent glucose au bout d'une heure par le volume de la solution qui a été hydrolysée c'est à dire 100 ml.

3.5.3. Détermination des paramètres V_m et K_m de l'hydrolyse acide :

Pour déterminer ces 2 paramètres nous avons travaillé sur des hydrolyses acides à des températures de 70, 90 et 120°C et des pH respectivement 4, 3 et 2.

3.5.3.1. Détermination de V_m et K_m de l'hydrolyse acide sur l'amidon de maïs température de 70°C et pH 4 :

Tableau 3.14: Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse acide à $T=70^\circ\text{C}$ et pH 4

S (g/l)	V (g/l.h)	1/S (l/g)	1/V (h.l/g)
2	1,6	0,50	0,625
10	2,6	0,10	0,385
20	4,4	0,05	0,227
40	5,2	0,03	0,192

Le tableau 3.14 regroupe les résultats permettant de calculer la valeur de V_m . Cette valeur est déterminée à partir de la courbe représentée dans la figure 3.13.

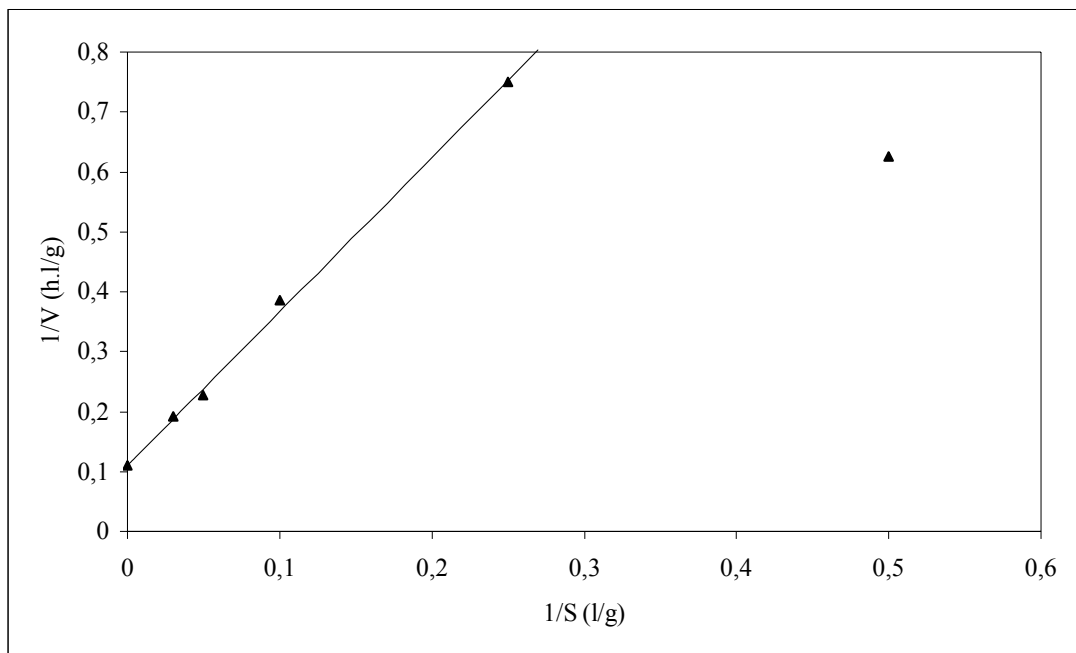


Figure 3.13: Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse acide à $T=70^\circ\text{C}$ et pH 4

La valeur de V_m obtenue est de 9,09 g/l pour une température de 70°C et pH 4 est considérée relativement faible pour toute éventuelle application. Cette faible valeur est justifiée par le pH élevé et la température faible qui favorise de gélification de l'amidon.

Pour apprécier l'affinité entre l'acide et le substrat il est nécessaire de calculer le K_m à chaque concentration.

Pour cela on calcul le logarithme de la concentration en équivalents glucose multipliée par 10^3 en fonction du temps (tableau 3.15). Les K_m sont donnés par la pente de la droite $\text{Log}(C \cdot 10^3) = f(t)$ (figure 3.14).

Tableau 3.15: Calcul de $\text{Log}(C \cdot 10^3)$ en fonction du temps de l'hydrolyse acide à $T=70^\circ\text{C}$ et pH 4

t (mn) S (g/l)	0	10	20	40	60
2	0	0,52	0,83	1,10	1,20
10	0	0,83	1,11	1,36	1,42
20	0	1	1,33	1,55	1,62
40	0	1,12	1,29	1,65	1,72

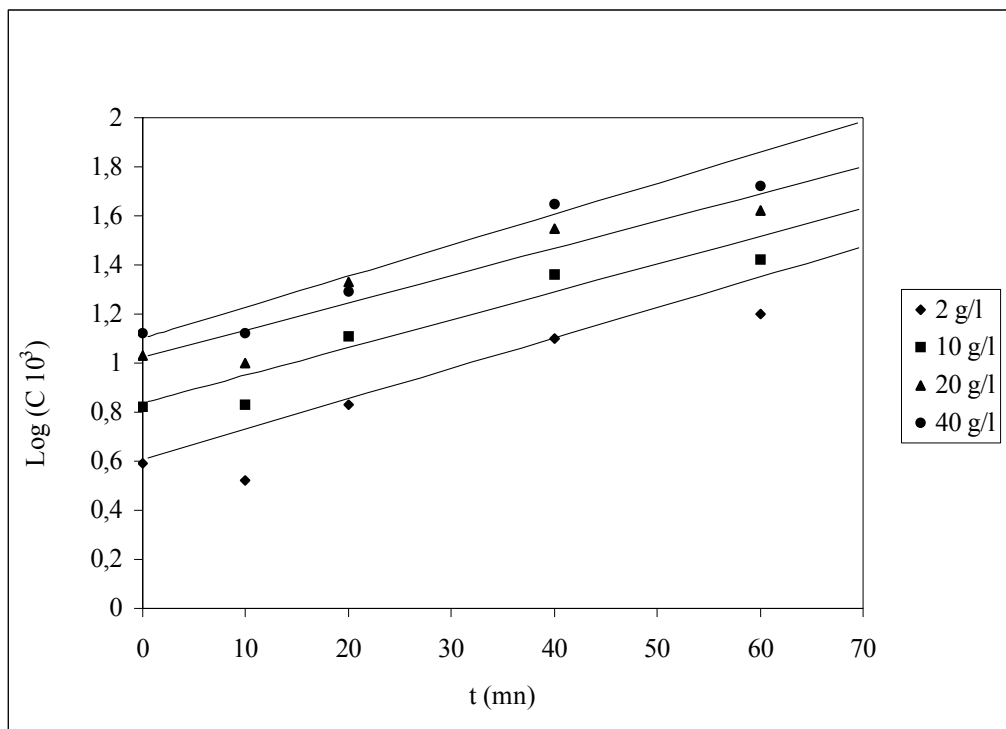


Figure 3.14: Courbe $\text{Log}(C \cdot 10^3) = f(t)$ de l'hydrolyse acide à $T=70^\circ\text{C}$ et pH 4

A cet effet les valeurs des K_m obtenues pour les différentes concentrations en substrat de 2, 10, 20, et 40 g/l sont respectivement 0,0105, 0,0107, 0,0108 et 0,0120 mn^{-1} . Ces valeurs sont pratiquement identiques, toutefois le substrat à la concentration de 2 g/l est considéré comme le substrat qui possède la meilleure affinité.

3.5.3.2. Détermination de V_m et K_m de l'hydrolyse acide sur l'amidon de maïs à température de 90°C et pH 3 :

Tableau 3.16: Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse acide à $T=90^\circ\text{C}$ et pH 3

S (g/l)	V (g/l.h)	1/S (l/g)	1/V (h.l/g)
2	3,8	0,50	0,263
10	11	0,10	0,091
20	25,4	0,05	0,039
40	44,7	0,03	0,022

Le tableau 3.16 regroupe les résultats permettant de calculer la valeur de V_m . Cette valeur est déterminée à partir de la courbe représentée dans la figure 3.15.

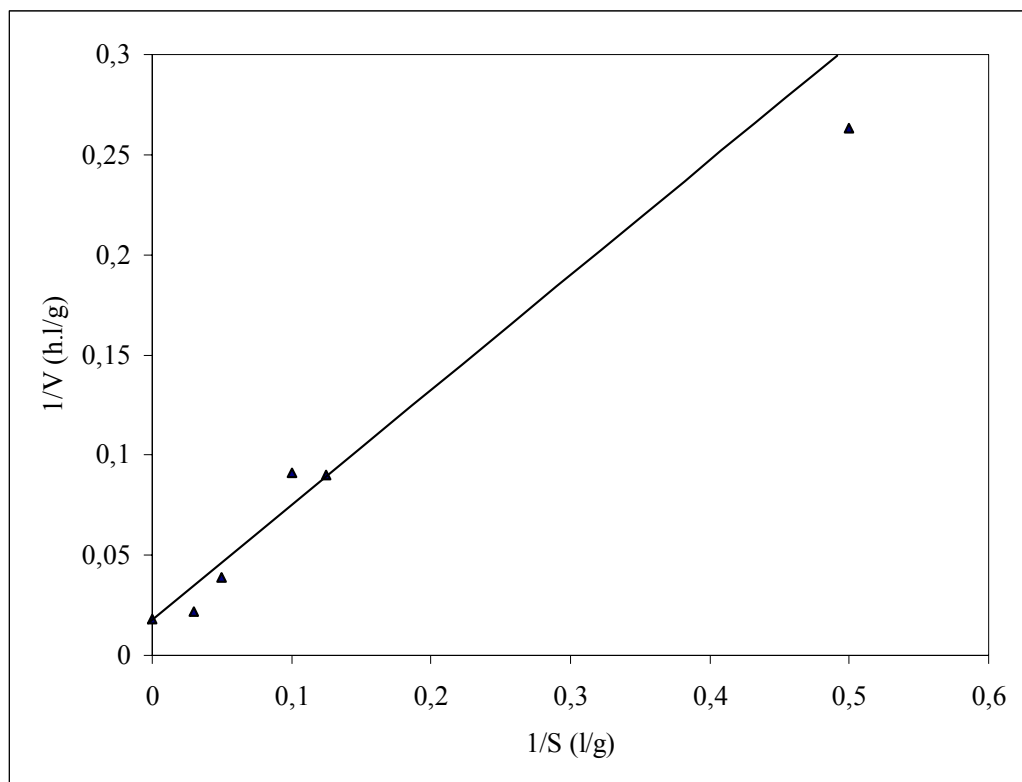


Figure 3.15: Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse acide à $T=90^\circ\text{C}$ et pH 3

La valeur de V_m obtenue est de 55,56 g/l pour une température de 90°C et pH 3.

On constate une forte augmentation de la vitesse à la suite de l'augmentation de la température et la baisse du pH. Ces conditions favorisent l'atténuation du phénomène de la gélification responsable d'une hydrolyse faible.

Le tableau 3.17 et la figure 3.16 regroupent les données permettant le calcul graphique de K_m .

Tableau 3.17: Calcul de $\text{Log}(C \cdot 10^3)$ en fonction du temps de l'hydrolyse acide à $T=90^\circ\text{C}$ et pH 3

t (mn) \ S (g/l)	0	10	20	40	60
2	0	1,08	1,40	1,49	1,60
10	0	1,78	1,97	2,02	2,04
20	0	2,23	2,34	2,39	2,40
40	0	2,42	2,61	2,64	2,65

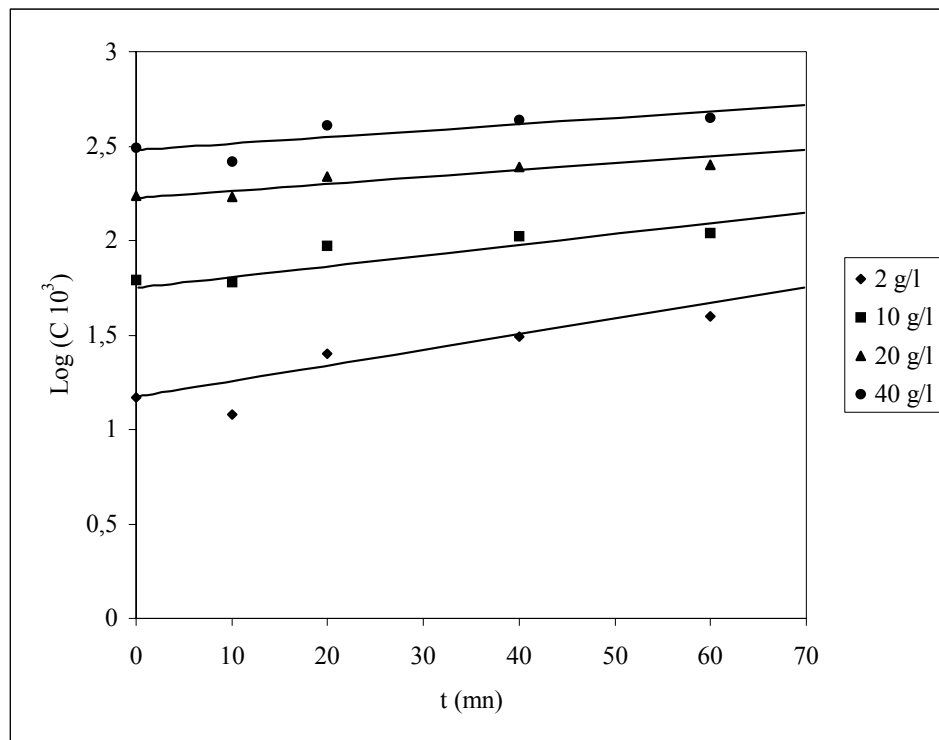


Figure 3.16: Courbe $\text{Log}(C \cdot 10^3) = f(t)$ de l'hydrolyse acide à $T=90^\circ\text{C}$ et pH 3

Les valeurs des K_m obtenues pour des concentrations en substrat de 2, 10, 20 et 40 g/l sont respectivement 0,0077, 0,0047, 0,0032 et 0,0030 mn^{-1} .

A l'issus de ces résultats nous constatons que les substrats à fortes concentrations sont considérés comme les produits ayant subit l'hydrolyse la plus importantes. Ceux ci est justifiées par les valeurs des K_m les plus faibles.

De plus les 2 concentrations en substrat de 20 et 40 g/l leurs valeurs de K_m obtenues sont très proches (0,0032 et 0,0030 mn^{-1}). Par conséquent, il est recommander de pratiquer une hydrolyse à la température de 90°C et pH 3 pour un substrat de 20 g/l.

3.5.3.3. Détermination de V_m et K_m de l'hydrolyse acide sur l'amidon de maïs à température de 120°C et pH 2 :

Tableau 3.18: Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse acide à $T=120^\circ\text{C}$ et pH 2

S (g/l)	V (g/l.h)	1/S (l/g)	1/V (h.l/g)
2	22,3	0,50	0,045
10	35,3	0,10	0,028
20	48,5	0,05	0,021
40	75,7	0,03	0,013

Le tableau 3.18 regroupe les résultats permettant de calculer la valeur de V_m . Cette valeur est déterminée à partir de la courbe représentée dans la figure 3.17.

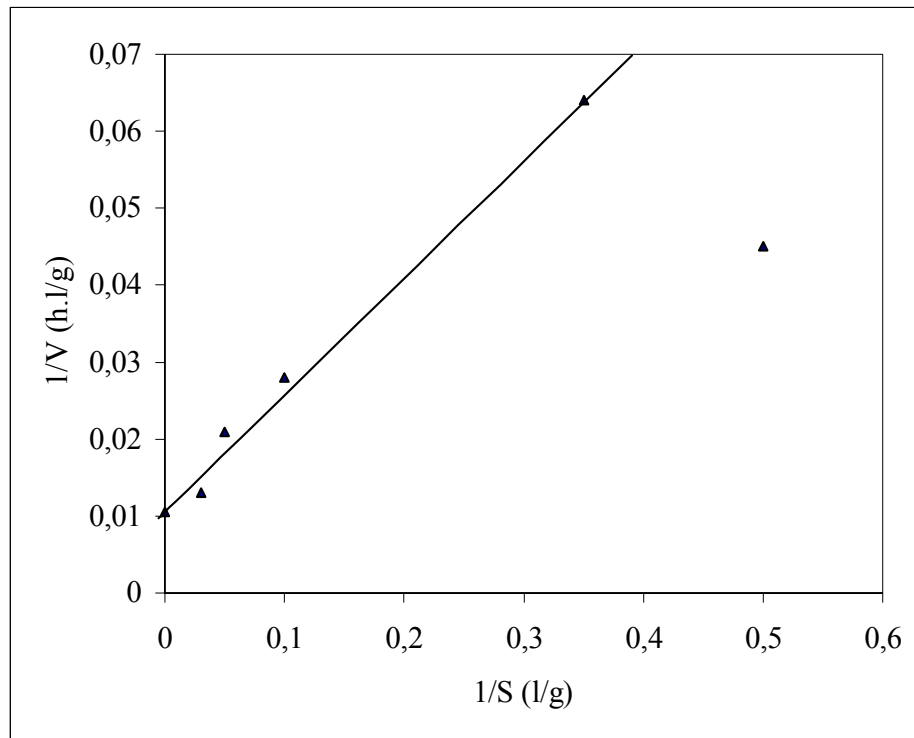


Figure 3.17: Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse acide à $T=120^{\circ}\text{C}$ et pH 2

L'hydrolyse de l'amidon à la température de 120°C et pH 2 a entraîné une augmentation de la valeur de V_m . Cette valeur de l'ordre de $95,23 \text{ g/l}$ est largement supérieur aux valeurs obtenues précédemment. Ceux ci confirme l'action favorable des températures élevées et des faibles pH sur l'hydrolyse de l'amidon.

Le tableau 3.19 et la figure 3.18 regroupent les données permettant le calcul graphique de K_m .

Tableau 3.19: Calcul de $\text{Log}(C \cdot 10^3)$ en fonction du temps de l'hydrolyse acide à $T=120^{\circ}\text{C}$ et pH 2

t (mn) S (g/l)	0	10	20	40	60
2	0	2,16	2,27	2,33	2,35
10	0	2,40	2,51	2,54	2,55
20	0	2,59	2,65	2,69	2,69
40	0	2,78	2,85	2,88	2,88

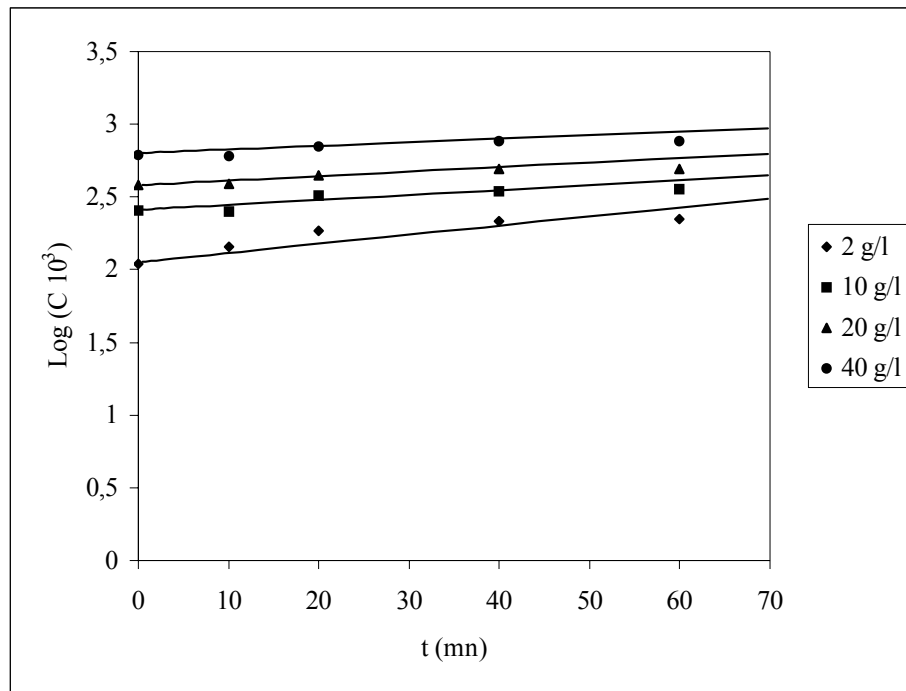


Figure 3.18: Courbe $\text{Log}(C \cdot 10^3) = f(t)$ de l'hydrolyse acide à $T=120^\circ\text{C}$ et $\text{pH } 2$

Les valeurs des K_m obtenus pour des concentrations en substrat de 2, 10, 20 et 40 g/l sont respectivement 0,0040, 0,0028, 0,0020 et 0,0017 mn^{-1} .

A l'issue de cette hydrolyse acide nous constatons que le substrat à la concentration de 40 g/l et comme celui qui présente la meilleur affinité pour des températures des 120°C et $\text{pH } 2$ vis à vis de l'acide utilisé. Ces résultats sont d'ailleurs justifiés par le pourcentage en amidon dégradé en glucose comme indiqué dans le chromatogramme de la figure 3.6.

On remarque aussi que plus le pH est faible plus l'affinité acide-substrat est faible et que la vitesse maximale V_m augmente avec la température.

3.5.4. Détermination des paramètres V_m et K_m de l'hydrolyse enzymatique :

Pour la détermination des 2 paramètres nous avons utilisés l'enzyme l' α amylase dans des solutions enzymatiques à 2 concentrations différentes à savoir 0,38 et 7,6 KNU et à la température de 90°C et $\text{pH } 5,6$.

3.5.4.1. Détermination de V_m et K_m de l'hydrolyse enzymatique sur l'amidon de maïs avec une activité enzymatique de 0,38 KNU :

Le tableau 3.20 et la figure 3.19 ont été utilisés pour la détermination de V_m et K_m .

Tableau 3.20: Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse enzymatique à $T=90^{\circ}\text{C}$ et pH 5,6, activité enzymatique 0,38 KNU

S (g/l)	V (g/l.h)	1/S (l/g)	1/V (h.l/g)
2	20,1	0,50	0,049
10	27,5	0,10	0,036
20	35,2	0,05	0,028
40	43,5	0,03	0,023

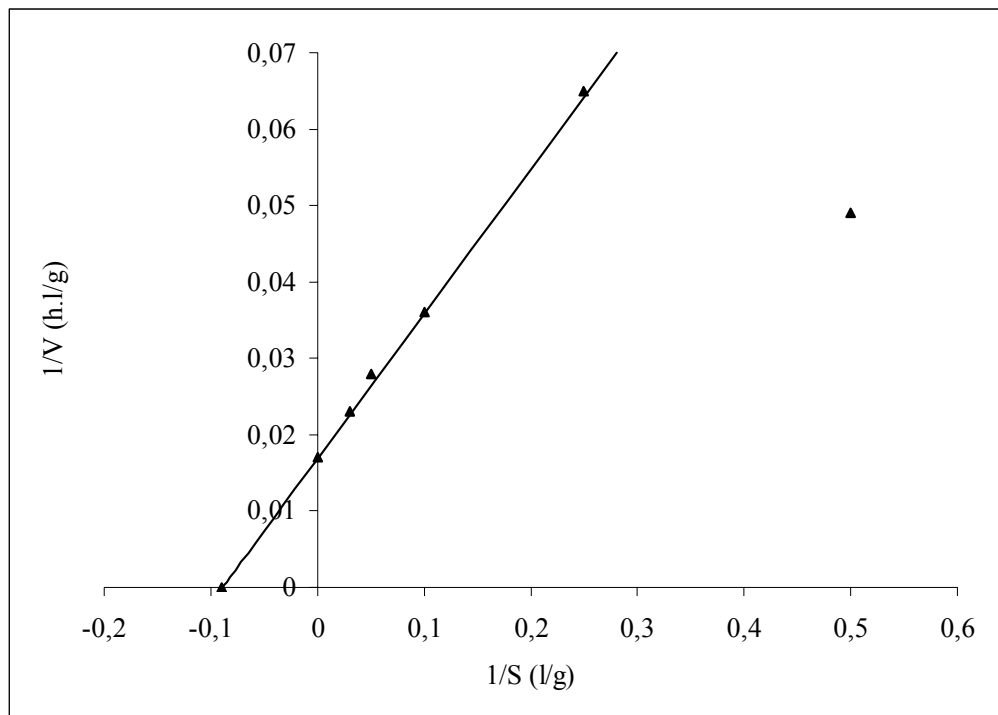


Figure 3.19: Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse enzymatique à $T=90^{\circ}\text{C}$ pH 5,6 activité enzymatique 0,38 KNU

La courbe $1/V = f(1/S)$ nous donne pour l'hydrolyse enzymatique avec une activité de l'enzyme de 0,38 KNU $V_m = 58,82$ g/l et $K_m = 11,11$ g/l

3.5.4.2. Détermination de V_m et K_m de l'hydrolyse enzymatique sur l'amidon de maïs avec une activité enzymatique de 7,6 KNU :

Le tableau 3.21 et la figure 3.20 regroupent les données pour le calcul de V_m et K_m .

Tableau 3.21: Valeur inverse des vitesses d'hydrolyse en fonction de l'inverse de la concentration du substrat de l'hydrolyse enzymatique à $T=90^\circ\text{C}$ et pH 5,6, activité enzymatique 7,6 KNU

S (g/l)	V (g/l.h)	1/S (l/g)	1/V (h.l/g)
2	17,6	0,50	0,057
10	35,0	0,10	0,029
20	62,2	0,05	0,016
40	85,0	0,03	0,012

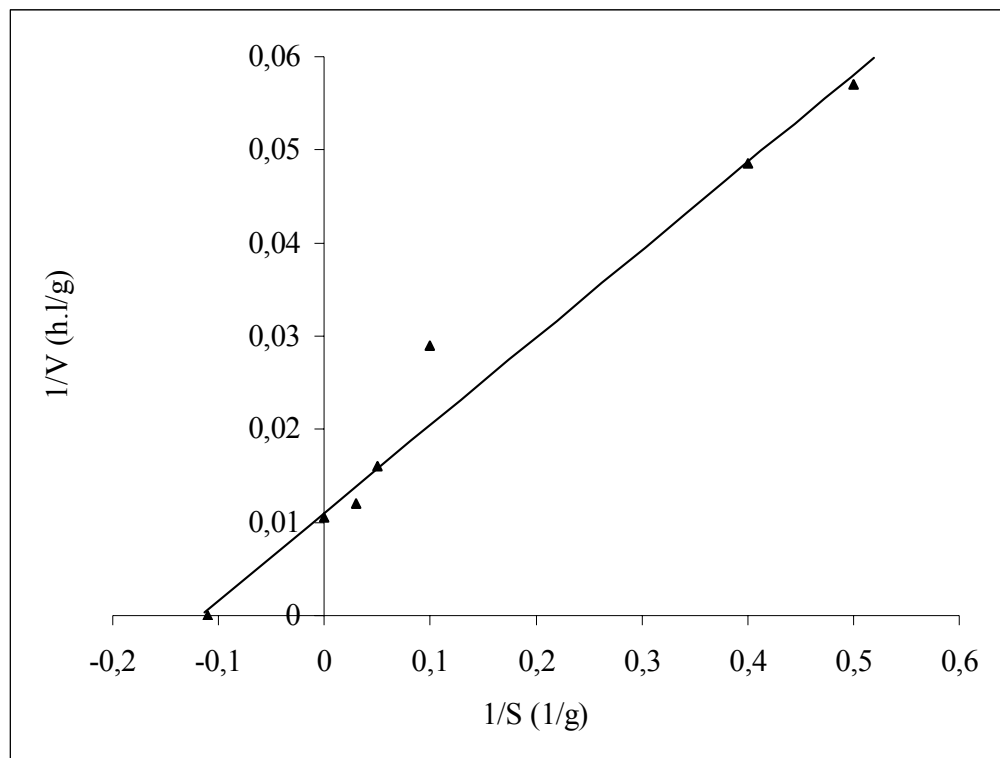


Figure 3.20: Courbe $1/V = f(1/S)$ de l'hydrolyse enzymatique à $T=90^\circ\text{C}$ et activité enzymatique 7,6 KNU

La courbe $1/V = f(1/S)$ nous donne pour l'hydrolyse enzymatique avec une activité de l'enzyme de 7,6 KNU $V_m = 95,23$ g/l et $K_m = 9,09$ g/l.

On constate que la vitesse maximale pour la solution où l'activité enzymatique est de 7,6 KNU est presque 2 fois supérieur à la vitesse maximale pour la solution où l'activité enzymatique est de 0,38 KNU. Cela est vérifié d'après les tableaux 19 et 21 par la production en équivalents glucose qui a presque doublée au bout d'une heure d'hydrolyse pour la solution à 40 g/l.

Les K_m obtenus permettent d'évaluer l'affinité de l'enzyme sur l'amidon de maïs. Nous constatons que pour l'hydrolyse enzymatique que la constante d'affinité est à peu près la même pour les 2 activités enzymatiques (9,09 et 11,11 g/l). L'affinité de l'enzyme sur l'amidon de maïs est un facteur important sur le rendement de l'hydrolyse.

Ces résultats sont considérés comme étant un peu éloignés par rapport aux résultats obtenus par différents auteurs consultés.

A cet effet, ces auteurs rapportent des valeurs de K_m compris entre 1 et 4 g/l. Néanmoins ces résultats sont d'une manière générale synonyme de satisfaisant entre le substrat et l'enzyme.

On remarque aussi que V_m pour l'hydrolyse enzymatique d'activité 7,6 KNU et que V_m pour l'hydrolyse acide à une température de 120°C sont les mêmes pour les 2 cas c'est à dire 95,23 g/l.

Nous pouvons dire d'après nos résultats que l'intérêt de l'hydrolyse enzymatique c'est d'aboutir presque aux mêmes résultats que l'hydrolyse acide tout en ayant un sirop de glucose exempt de tout trace d'acide et qui sera utilisé pour la fabrication de sirop pour les industries pharmaceutiques

3.6. Résultats de l'hydrogénation catalytique :

L'hydrogénation de l'hydrolysate de la solution d'amidon à 40 g/l provenant de l'hydrolyse enzymatique avec une quantité enzymatique de 7,6 KNU nous donne un pourcentage de 5,22 % en sorbitol d'après le chromatogramme de la figure 3.21.

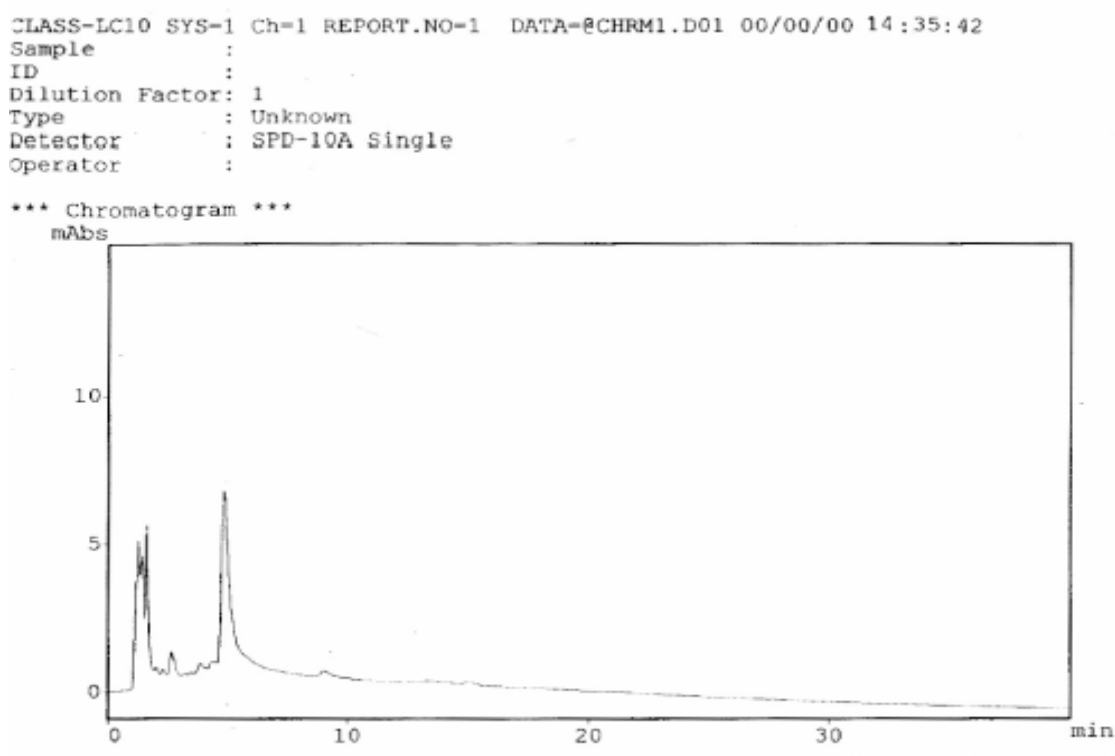


Figure 3.21: Chromatogramme de l'hydrogénation catalytique de l'hydrolysate de la solution d'amidon à 40 g/l de quantité enzymatique à 7,6 KNU

D'après cette analyse la quantité de sorbitol obtenue est faible en comparaison à d'autres auteurs où la quantité de sorbitol obtenue est de l'ordre de 90 %.

Ce résultat est satisfaisant vue les conditions opératoires qu'on a utilisé c'est à dire température de 60°C et pression de 6 bars.

Afin d'améliorer ce rendement il est nécessaire que les facteurs température et pression soient important à savoir température comprise entre 100 et 200°C et haute pression (90-120 atm) pour avoir un meilleur rendement.

CONCLUSION

L'hydrolyse est l'une des techniques de fractionnement de la matière végétale qui, avec l'extraction en milieu aqueux, a sans doute donné lieu au plus grand nombre de travaux. Dans les processus de transformations biologiques de cette matière première, l'hydrolyse tient une place essentielle puisqu'elle permet de transformer les bio polymères en monomères assimilables par les organismes vivants.

L'objectif de notre travail est de donner une idée sur les méthodes de productions et de transformations de l'amidon de maïs en sirops hydrogénés.

Dans ce cadre et afin de valoriser les sous produits de l'industrie du maïs nous avons procédé à l'hydrolyse de l'amidon produit par l'unité industriel de Maghnia puis à hydrogéner les produits d'hydrolyse afin d'obtenir du sorbitol dont l'usage pharmaceutique, diététique et nutritionnelle est fortement recommandé.

A l'issu de ce travail les principaux résultats obtenus peuvent être résumé comme suit :

Tout d'abord l'hydrolyse acide de nos échantillons a montré que la production en sirop de glucose augmente lorsque la température augmente et le pH diminue. A cet effet le taux le plus élevé a été obtenu pour une solution d'amidon à 40 g/l lorsque la température est de 120°C et le pH 2 à savoir 84,14 % en glucose et 13,36 % en maltose.

En revanche l'hydrolyse enzymatique a montré que la production en sirop de glucose le plus élevé est obtenu lorsque la température est de 90°C avec une activité enzymatique de 7,6 KNU pour une solution d'amidon à 40 g/l c'est-à-dire 51,22 % en glucose et 22 % en maltose.

Cette étude nous a permis de comparer l'hydrolyse acide à l'hydrolyse enzymatique et de déterminer les paramètres optimums pour avoir un meilleur rendement des produits obtenus.

Si l'hydrolyse de l'amidon de maïs par voie acide a été abandonnée au profit de l'hydrolyse enzymatique, c'est que cette dernière s'est caractérisée par la pureté des produits obtenus et par son coût économique et si la faisabilité de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon de maïs a été réalisée à l'échelle de laboratoire, l'extension du procédé est envisagée à des volumes plus importants en réalisant une unité de production de sirop de glucose par voie enzymatique.

Ensuite et concernant l'hydrogénation des produits d'hydrolyse, notre expérience a abouti à la production en sorbitol avec un taux de l'ordre de 5 %. Ce taux peut être considéré comme faible en comparaison avec différents auteurs consultés. Ce faible taux peut être attribué à la température et pression faible.

Enfin et l'issue de notre travail nous pouvons recommander au industriel d'orienter leur activité vers la production de ce produit en milieu enzymatique. Pour cela il est nécessaire d'engager d'autres travaux afin d'optimiser tous les paramètres entrant dans ce type de production, sans oublier des essais *in vivo* et *in vitro* afin de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces produits.

REFERENCES

1. Ansart M., "Le poids et la diversité des débouchés industriels de l'amidon ", (1990), I.A.A., vol 6, p 541-545.
2. Scriban R., "Les industries agricoles et alimentaires", Progrès des Sciences et Techniques, Lavoisier, Tec et Doc, Paris, (1988).
3. Le bot Y. "Les produits d'hydrogénation de sucres issus de l'amidon, le sucre, les sucres, les édulcorants et les glucides de charges", dans les I.A.A., (1992), vol 15, p 362-377.
4. Krum J., "Biochimie, Etudes Médicales et Biologiques", tome II Métabolisme, (1981).
5. Colonna P., Buleon A., Le loup V., "Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales", Actualités des I.A.A., (Juin 1990).
6. Adkins G.K. et Greenwood C.T., "Carbohydr. Res.", vol 81, (1996), p 152.
7. Bank W. et Greenwood C.T., "Starch and its components", Edinburgh University Press, (1975).
8. Colonna P. et Roua X., "Industrie des céréales", (1986), vol 41, p 7.
9. Duprat F., Gallant D., Guilbot A. Mercier C., Robin J.P., "L'amidon dans les polymères végétaux: Polymère pariétaux et alimentaire non azotés", ed. B. Monties Gauthiers-Villars, (1980).
10. French D., Organization of starch granules in " Starch, chemistry and technology". Eds. R.L. Whistler, J.N. Bemiller et E.F. Parschall, Academic press, New-York, (1984).
11. Sterling C. et Claus H., "Die Stärke", (1974), vol 26, p 105,
12. Billardieris C.G., Maurice T.j., Vose J.R., "Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry", Journal Food Scio., (1980), vol 45, p 1669-1674.
13. Mestres C., "Gélification d'amidon de maïs modifiés thermiquement. Application à la fabrication de pâtes alimentaires sans gluten", Thèse de Doctorat. Univ. Nantes, (1986).
14. Le bras A., "Une Amidonnerie pilote de Maïs", Actualités des Industries Alimentaires et Agro-Industrielle, (octobre 1988).

15. Richard-Molard, "Perspectives de développements technologiques dans la filière des industries des céréales", Actualités des Industries Alimentaires et Agro-industrielles, (Juin 1990).
16. Reed G. et Underkofler L.A., In "Enzymes in Food Processing", (1966).
17. Smith B. W. et Roe J.H., "Journal Biol. Chem.", (1957), vol 227, p 357.
18. Sutra L., "Gélification, broyage et homogénéité de l'amidon", Bull. Soc. Chim., (1947), vol 14, p 738.
19. Whistler R.L., Goatley J.L., Spencer W.W., "Effect of drying on the physical properties and chemical reactivity of corn starch granules", Cereal Chem., (1959), vol 36, p 84.
20. Pauling L. "The nature of chemical bond", Cornell Univ. Press, London, (1948), p 304.
21. Leach W.H., Mc cown L.D., Schoch T.J., "Structure of the starch granule, Swelling and solubility patterns of various starches", Cereal Chem, (1959), vol 36, p 534.
22. Kessous C., "Biochimie structurale", OPU, (décembre 1987).
23. Robin J.P., "Comportement du grain d'amidon à l'hydrolyse acide ménagée", Thèse de doctorat Univ. Paris IV, (1976).
24. Multon J.L., "Le sucre, les sucres, les édulcorants et les glucides de charge dans les I.A.A.", APRIA. Collection Sciences et Techniques Agro-Alimentaires, (1992).
25. Mercier C., "L'amidon et les enzymes en sucrochimie", Ind. Aliment. Agric, (1982).
26. Prudhomme J., "Les enzymes en Industries Alimentaires", Ind. Aliment. Agric, (Octobre 1982).
27. Mercier C., "Hydrolases et dépolymérases, enzymes d'intérêt industriel", (1985).
28. Durand G. et Monsan P., "Les Enzymes, production et utilisations industrielles", Gauthier-Villars, (1982).
29. Zimmermann M., "Hydrolyse de l'amidon, nature des produits obtenus, le sucre, les sucres, les édulcorants et les glucides de charges", dans les I.A.A., (1992), vol 11, p 287-306.
30. Scriban R., "Biotechnologie", 2ème édition Tech et Doc Lavoisier, (1984).
31. Zimmermann M., "Les sucres issus des amidons", Collection Sciences et Techniques Agro-Alimentaires, chapitre 11, (APRIA 1992).

32. Le bot Y., "Les édulcorants issus de l'amidon et leurs applications", Ind. Aliment. Agr. (juillet/Août 1997).
33. Brios E., Dusautois C. et Heno P., "Applications alimentaires des sirops de glucose à haute teneur en maltose", (Juillet/Août 1998), Ind. Alim. Agr.
34. Berghmans E., "Carbohydrate sweeteners in foods and nutrition", Academic Press, London, (1980).
35. Wilson A.M., Work T.M., Bushway A.A., and Bushway R.J., "HPLC determination of Fructose, Glucose, and Sucrose in Potatoes", Journal of Food Science, (1981), vol 46, p 300-301.
36. Somogy M. and Nelson N., "Photométric adaptation of Somogy for détermination of glucose", J. Biol. Chem., (1944), vol 153, p 375-380.
37. Summer J.B., "J. Biol. Chem.", (1951), vol 47, p 5.
38. Vallat I., " Mise en oeuvre de la glucoamylase immobilisée sur rafle de maïs en couche fluidisée", thèse de doctorat, institut national polytechnique de Toulouse, (1984).
39. Nouri M., "Les sirops hydrogènes de glucose", Actualités Techniques et Industrielles, I.A.A. (Novembre 1992), p 867-872.
40. CDIUPA, "Centre de Documentation Internationale des Industries Utilisatrices de Produits Agricoles", (Mai 1978).
41. Arnaud P., "Cours de Chimie Organique", Bordas, édit Gauthier-Villard, (1985).
42. Jacquemin C., Guerin B., "Actualité Sci. Tech.", Ind. Agro. Alimentaire, (1989).
43. Billaux M.S., "Les polyols: Utilisation diététique dans le cadre de la législation française", Cah. Nutr. Diét, (1989), vol 4, p 287-290.
44. Heraud G. et Roux E., "Acquisitions récentes relatives aux substances édulcorantes", Applications à la diététique du diabète dans Journées de Diabétologie, (1976), p 169-185.
45. Beaugerie B., Flourie B., Franchisseur C., Pellier P., Dupas H., Rambaud J.C., "Absorption intestinale et tolérance clinique au sorbitol, maltitol et isomalt", Clin. Biol., (1989), vol 13, p 102.
46. Nordman H., "Les édulcorants, Actualités Techniques et Industrielles", I.A.A (septembre 1994), p 593-596.
47. Gelman J.L., "Nouveau édulcorants d'avenir: les polyols", Actualités des industries alimentaires et agro-alimentaires dans I.A.A., (Mai 1987), p 441-447.

48. Huchette et Roquette Frères, “Les techniques de transformation dans le domaine de l’amidonnerie, glucoserie”, Informations Chimie n° 228/229, (Août-septembre 1982), p 133-136.
49. De hauss S. “Production de sirops de glucose à haute teneur en fructose”, données économiques, Industries Alimentaires et Agricoles, (1997).
50. Guiraud J.P. et Galzy P., “Production de fructose par hydrolyse chimique de l’inuline”, Industries alimentaires et agricoles, (1981), vol 98, p 45-51.
51. Saito N., “Biochem, Biophy.”, (1973), vol 155, p 290.
52. Baret J.L., “Enzymes et valorisation céréalière”, Actualités des Industries Alimentaires et Agro-Industrielle, (Mai 1985).
53. AFNOR. “Recueil des normes françaises des céréales et produits céréaliers”, (1989).
54. Godon B. et Loisel W., “Guide pratiques d’analyses dans les industries de céréales”, édit. Tec et Doc Lavoisier, Paris, (1984).
55. Le loup V., Colona P. et Buleon A., “Transformation enzymatique des glucides dans : bio transformations des produits céréaliers“, Lavoisier, (1990).
56. Nouri M., “Intérêt des techniques enzymatiques dans la production des sirops de glucose et de fructose”, Cahier scientifique et technique, I.A.A (Juillet/Août 1991), vol108, p 593-596.
57. Madsen G.B., Norman B.E. et Slott S., “A new heat bacterial amylase and its use in high temperature liquefaction Starch”, (1973), vol 25, p. 304-308.
58. Chpenille F. et Clausen H., “Biochimie”, Paris, Herman, (1974).
59. Coulson et Richardson’s, “Chemical engineering”, (1996), volume 3, troisième édition.
60. Sanchez P., “Procédé de production de sirop de xylose par hydrolyse acide du sorgho”, Thèse de doctorat, institut national polytechnique de Toulouse, (1990).