

UNIVERSITE DE KINSHASA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

B.P.: 190 KINSHASA XI



« Action des amylases de *Rhynchosia insignis* O.
Hoffm.R.E.Fries (Munkoyo) sur l'hydrolyse de l'amidon et
préparation d'une boisson alcoolisée à base des tubercules de
Dioscorea alata (Ignose) ».



VUVU MAKAYA Justin

**Travail de fin de cycle présenté en vue de
l'obtention du Diplôme de graduat en Biologie**

**Directeur : Professeur LUMANDE KASALI
Joseph**

Année Académique : 2014 - 2015

EPIGRAPHIE

« L'homme se mesure quand il se trouve devant les obstacles » Antoine de Saint-Exupéry.

DEDICACE

A vous mes parents **VUVU MAKAYA Justin et SAMBI OMOYI MUKANDU Marie-Louise**, pour l'amour indéfectible témoigné à notre égard à travers un appui sans faille et encouragements incessants.

REMERCIEMENTS

Au terme de nos trois années de formation à la Faculté des Sciences précisément au Département de Biologie, nous voulons nous acquitter d'un agréable devoir, celui de remercier de tout cœur tous ceux qui ont contribué à notre formation.

Notre gratitude au professeur **LUMANDE KASALI Joseph** celui qui a assuré la direction de ce travail, malgré ses lourdes charges et nombreuses occupations. Et à tous nos professeurs, chefs de travaux et assistants tel que **PAMBU DIEKAVANA Francis**, **CHIRO, KIHIOLO André** et **NLANDU Boniface** de l'INERA à qui nous dressons nos sincères remerciements pour la formation reçue.

Nos remerciements s'adressent aussi, à mes frères et sœurs : **LOFUTA OLENGA VUVU Gaylord**, **NGOY VUVU Berdit**, **MBUZI VUVU Laura**, **MUANJI VUVU Agnès-Sarah**, **KITUKA VUVU Otis** et **SAMBI OMOYI VUVU Louise**.

A mes oncles, tantes, neveux, nièces, cousins et cousines : **MBUYI MWANJI Anicet**, **NGOMA MAKAYA Daniel**, **NZAU NGOMA Hermann** et à toute la famille **VUVU**.

A mes amis et connaissances : **ADIMASHI NDJENKONDO Chairman**, **NSASHI KALOMBO Olivier**, **MONDO Larrysa-Milka**, **KAMUANYA MUKUNA Jemima**, **NDJOKO Sephora**, **MUKENDI Naomi**, **DJANGO KAZADI Axcel**, **LUNGUNGU Youri**, **BEYA MULAMBA Lionel**, **MOSOLO NZONDO Franck**, **BELADE ZALO Prince**, **MANDO KUBA Rodrigue**, **MATADI Jeannine**, **ZELI MONDONGOLONGO Louison**, **NYANGANGA WESE Héritier**, **MAKELELE Gauthier**, **BILE KEBIO Yves**, **MBONKUMU MBOTO Ben**, **BIOTA BIGO**, **MAVANGA VUVU Olivier**, **MBO BENOME Paguy**, **ILUNGA MUELA Archange**, **NGUNDA KASAMBULA Hermence**, **MUJINGA Sylvain**, **ZOGI Sylvain**, **MBWESE Gaylord**, **NDUANDELO Esther** et sans oublier tous mes collègues dont les noms ne se figurent pas sur la présente page.

Enfin, que tous ceux qui, de près où de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, qui ne se retrouvent pas sur cette page sachent, néanmoins que leur noms et leur image sont gravés dans notre cœur.

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1-1. <i>Structure de l'Amidon</i>	13
Figure 1-2. <i>schéma de fabrication de la boisson Munkoyo –Diagram of manufacturing of Munkoyo beverage (Pauwels et al., 1992)</i>	29
Figure 1-3. <i>pH-mètre</i>	30
Figure 1. <i>Amidon brut extrait des tubercules d'igname</i>	33
Figure 2. <i>Broyat des racines de Rhynchosia insignis (Munkoyo)</i>	34
Figure 3. <i>Moût d'igname</i>	34
Figure 4. <i>Moût d'igname avant liquéfaction-saccharification</i>	35
Figure 5. <i>Moût d'igname après liquéfaction-saccharification</i>	35
Figure 6. <i>Boisson fermentée</i>	36
Figure 7. <i>Quantité de la matière fraîche de Dioscorea alata</i>	37

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau I. <i>Ajustement entre taxonomie botanique et noms vernaculaires des plantes de Munkoyo en R.D. Congo</i>	6
Tableau II. <i>Résumé de la description botanique des cinq plantes couramment utilisées dans le procédé de fabrication du Munkoyo</i>	9
Tableau III. <i>Concentration en sucres dans les extraits de racines de Munkoyo (% p/v)</i>	12
Tableau IV. <i>Structure de l'amylopectine</i>	13
Tableau V. <i>Composition chimique de la boisson Munkoyo</i>	21
Tableau VI. <i>Correction à la lecture de la gravité spécifique</i>	32
Tableau VII. <i>Résultat de différents tests effectués Avant et après fermentation</i>	36

LISTE DES ABREVIATIONS

DHEA: Antioxydant activity of Dioscorea and dehydroepiandrosterone in older Humans.

USIPA : Unions des Syndicats des Industries des Produits Amylacés et de leurs dérivés.

RESUME

L'étude de l'action des amylases de *Rhynchosia insignis* (Munkoyo) sur l'hydrolyse de l'amidon et la préparation d'une boisson alcoolisée à base des tubercules de *Dioscorea alata*. Pour ce faire, notre étude et expérience se pratiquaient dans le Laboratoire de Microbiologie et de Physiologie Végétale du Département de Biologie, dans la Faculté des Sciences au sein de l'Université de Kinshasa en appliquant la méthodologie.

La présente étude a pour objectif principal de décrire, d'analyser et d'expliquer l'action des amylases de *Munkoyo* sur l'hydrolyse de l'amidon et la préparation d'une boisson alcoolisée à base des tubercules de *Dioscorea alata*.

Le Munkoyo est une boisson fermentée à base des tubercules de *Dioscorea alata*. La spécificité de cette boisson est l'utilisation de racines, appelées également Munkoyo, comme source d'enzymes amylolytiques dans le procédé de fabrication de la boisson. Cette revue résume l'état actuel des connaissances scientifiques sur le Munkoyo. Les points développés sont : la description botanique, les aires de distribution et la multiplication de la plante Munkoyo ; la composition chimique des racines ; les enzymes amylolytiques dans les racines et leurs propriétés ; la description du procédé de fabrication de la boisson ; les différents processus biochimiques intervenant pendant la fabrication de la boisson ; la valeur nutritionnelle de la boisson. Dans le but de valoriser les racines de Munkoyo et d'orienter les recherches sur l'optimisation et/ou l'industrialisation du procédé de fabrication de la boisson, les discussions sont focalisées sur la comparaison avec d'autres boissons fermentées et d'autres sources végétales d'enzymes amylolytiques.

La coloration jaunâtre de la boisson est attribuée aux pigments des racines à bois et à fibres jaunâtres. L'emploi des racines de Munkoyo permet d'éviter l'étape de maltage lors de la fabrication du Munkoyo. Le *Saccharomyces cerevisiae* est responsable de la production d'alcool. Cette levure est une espèce prédominante dans plusieurs boissons fermentées à base de céréales.

Mots-clés (Keys words)

Produit fermenté, racine, *Eminia*, *Rhynchosia*, *Vigna*, *Dioscorea alata*, enzyme, *Saccharomyces cerevisiae*, amylolyse.

ABSTRACT

The study of the action of amylases of *Rhynchosia insignis* (Munkoyo) on the hydrolysis of the starch and the preparation of alcoholic drink at base of the tubers of *Dioscorea alata*. With this intention, our study and experiment were practised in the Laboratory of Microbiology and Vegetable Physiology of the Department of Biology, in the Faculty of Science within the University of Kinshasa by applying methodology.

The present study with for principal objective to describe, analyze and explain the action of amylases of Munkoyo on the hydrolysis of the starch and the preparation of alcoholic drink at base of the tubers of *Dioscorea alata*.

Munkoyo is a fermented drink at base of the tubers of *Dioscorea alata*. The specificity of this drink is the use of roots, also called Munkoyo, like source of amylolytic enzymes in the manufacturing process of drink. This review summarizes the current state of scientific knowledge on Munkoyo. The developed points are : botanical description, surfaces of distribution and multiplication of the Munkoyo plant ; the chemical composition of the roots ; amylolytic enzymes in the roots and their properties ; the description of the manufacturing process of drink ; various biochemical processes intervening during manufacture of drink ; the nutritional value of drink. With an aim of developing the roots of Munkoyo and of directing research towards the optimization and/or the industrialization of the manufacturing process of drink, the discussions are focused on the comparison with other fermented drinks and other vegetable sources of amylolytic enzymes.

The yellowish colouring of drink is allotted to the pigments of the roots with wood and yellowish fibres. The use of the roots of Munkoyo makes it possible to avoid the stage of malting during the manufacture of Munkoyo. *Saccharomyces cerevisiae* is responsible for the production of alcohol. This yeast is a prevalent species in several drinks fermented containing cereals.

Key words (Keys words)

Fermented product, root, *Eminia*, *Rhynchosia*, *Vigna*, *Dioscorea alata*, enzyme, *Saccharomyces cerevisiae*, amylolysis.

TABLE DES MATIERES

EPIGRAPHIE.....	i
DEDICACE.....	ii
REMERCIEMENTS	iii
LISTE DES FIGURES	iv
LISTE DES TABLEAUX	v
LISTE DES ABREVIATIONS	vi
RESUME.....	vii
INTRODUCTION.....	1
1. PROBLEMATIQUE	1
2. OBJECTIFS DU TRAVAIL	2
2. a. Objectif principal.....	2
2. b. Objectifs spécifiques	2
4. INTERET DU SUJET	3
5. HYPOTHESES	3
6. CANEVAS.....	3
CHAPITRE I. GENERALITES	4
I.1. DIOSCOREA ALATA	4
<i>I.1.1. Description.....</i>	4
<i>I.1.2. Composition</i>	4
<i>I.1.3. Principales espèces cultivées</i>	5
<i>I.1.4. Usages.....</i>	5
I.2. RHYNCHOSIA INSIGNIS (O.HOFFM.) R.E.FR.	6
<i>I.2.1. Description botanique de la plante</i>	6
<i>I.2.2. Distribution et propagation de la plante.....</i>	7
<i>I.2.3. Sources d'enzymes amylolytiques</i>	10
(A) Accumulation des enzymes amylolytiques.....	10
(B) Les différentes activités amylolytiques	11
(C) Propriétés des α - et β -amylases.	11
I.3. AMIDON	12
<i>I.3.1. Origine botanique</i>	12
<i>I.3.2. Structure de l'amidon</i>	12
<i>I.3.3. Biosynthèse.....</i>	14
<i>I.3.4. Grains d'amidon de l'igname</i>	14

I.3.5. Propriétés chimiques.....	15
I.3.6. Digestion de l'amidon	15
I.3.7. Utilisations industrielles	16
I.4. HYDROLYSE DE L'AMIDON PAR LES AMYLASES.....	17
I.4.1. Alpha-amylase.....	17
(A) Types.....	18
(B) Mécanisme d'action	18
I.4.2 Beta-amylase (α -D 1,4 glucanne maltohydrolase EC:3.2.1.2)	18
(A) Propriétés de quelques bêta amylases.....	18
(B) Mécanisme d'action	19
I.4.3. Spécificité des exo amylases.....	19
I.5. VALEUR NUTRITIONNELLE, SUBSTANCES ANTI-NUTRITIONNELLES ET TOXICOLOGIE	19
CHAPITRE II. MILIEU, MATERIEL ET METHODES	22
II.1. MILIEU	22
II.1.1. SITUATION GEOGRAPHIQUE.....	22
II.1.2. HISTORIQUE DU DEPARTEMENT DE BIOLOGIE	22
II.2. MATERIEL	24
II.1.1. Comme matériel biologique.....	24
II.1.2. Comme matériel non biologique.....	24
II.3. MÉTHODES	25
(A) Principe.....	26
(B) Mode opératoire	26
(A) Empâtage :.....	27
(B) Liquéfaction-saccharification :.....	27
(C) Fermentation.....	28
(1) Ensemencement du moût	28
(a) Principe.....	28
(b) Mode opératoire.....	28
(2) Début de fermentation	28
II.3.6. MESURE DE LA DENSITE DU MOUT	29
(A) Principe.....	29
(B) Mode opératoire	30
II.3.7. MESURE DU pH DE LA BOISSON FERMENTEE	30

(A) Principe.....	31
(B) Mode opératoire	31
II.3.8. MESURE TAUX D'ALCOOL DE LA BOISSON FERMENTEE.....	31
(A) Principe.....	31
(B) Mode opératoire	32
CHAP III. RESULTATS ET DISCUSSIONS	33
III.1. RESULTATS	33
<i>III.1.1. Extraction de l'amidon</i>	33
<i>III.1.2. Préparation du broyat des racines de <i>Rhynchosia insignis</i> (Munkoyo)</i>	33
Figure 2. <i>Broyat des racines de <i>Rhynchosia insignis</i> (Munkoyo)</i>	34
<i>III.1.3. Moût d'igname</i>	34
<i>III.1.4. Recherche d'amidon</i>	35
(A) Test à l'alcool iodé de l'amidon avant la liquéfaction-saccharification	35
(B) Test à l'alcool iodé de l'amidon après la liquéfaction-saccharification	35
<i>III.1.5. Boisson obtenue après fermentation</i>	36
III.2. DISCUSSION	38
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	39
BIBLIOGRAPHIE	41

INTRODUCTION

1. PROBLEMATIQUE

En Afrique la fabrication de la bière ou la fermentation alcoolique est souvent liée à l'utilisation des céréales comme sources d'amylase ainsi que certaines racines. Mais comme source d'amidon ce sont les céréales notamment des tubercules (manioc, patate douce et igname) en particulier.

Le *Munkoyo* est une boisson fermentée à base de céréales, opaque, acide, alcoolisée et ressemblant à un porridge liquéfié. La boisson est consommée dans la province du Katanga, au sud de la République Démocratique du Congo et en Zambie. La particularité de cette boisson est la mise en œuvre d'enzymes amylolytiques exogènes provenant de racines, appelées également *Munkoyo*, lors de sa fabrication (Ergo *et al.*, 1994).

Selon (Hesseltine, 1979 ; Gadaga *et al.*, 1999 ; Steinkraus, 2004), le manque d'intérêt pour l'industrialisation du *Munkoyo* est dû aux connaissances éparses et incomplètes sur les enzymes amylolytiques des racines de *Munkoyo* et les étapes de fabrication de la boisson.

L'action des amylases présente l'avantage d'une commodité et d'une réponse concernant spécifiquement l'isomère biologiquement actif, ainsi que sur les formes bio disponibles. C'est ainsi que le recours à une enzyme est très utile dans le domaine analytique en raison de la spécificité absolue de la réponse ; c'est pourquoi on remplace fréquemment une technique biologique par un dosage dans lequel intervient un système enzymatique, le critère étant la détermination de la molécule transformée par la réaction enzymatique, (Poot A., 1954).

Cette technique n'offre en soi qu'un intérêt limité, dans la mesure où elle aboutit à déterminer la teneur totale de l'élément avec considération sur sa présentation et son degré de disponibilité. Sur ce, l'ensemble des bières africaines, boissons fermentées d'origine africaine qui nécessitent la transformation d'un substrat amylicé avant fermentation, peuvent être divisé en deux catégories : les bières dans lesquelles l'hydrolyse de l'amidon se fait par les enzymes résultant du maltage de céréales et les bières dans lesquelles l'hydrolyse de l'amidon se fait par les amylases des racines, (NDAGANO D. *et al.*, 2011).

Par conséquent, dans une certaine mesure à propos des ressources naturelles, les défauts de fabrication peuvent être atténués de ne doser que la fraction du constituant susceptible d'être efficace sur le plan nutritionnel. A leur actif, il faut

noter leur facilité d'emploi, la brièveté du délai nécessaire pour obtenir le résultat et, actuellement, la possibilité d'automatiser de nombreuses techniques constituant dans l'ensemble la technique la moins onéreuse dans la fabrication de la boisson à des Munkoyo et de tubercules d'ignames, (OYEWOLE O.B, 1997).

2. OBJECTIFS DU TRAVAIL

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de résumer les connaissances actuelles sur les enzymes amylolytiques des racines de *Munkoyo* et la boisson.

2. a. Objectif principal

La présente étude a pour objectif principal de décrire, d'analyser et d'expliquer l'action des amylases de *Munkoyo* sur l'hydrolyse de l'amidon et la préparation d'une boisson alcoolisée à base des tubercules de *Dioscorea alata*.

2. b. Objectifs spécifiques

- ❖ relever l'importance et l'impact des amylases de Munkoyo sur l'hydrolyse de l'amidon ; et à,
- ❖ Analyser après l'identification des ressources naturelles, l'importance de la pratique de Munkoyo dans la préparation d'une boisson alcoolisée à base des tubercules de *Dioscorea alata* ;
- ❖ Réaliser une préparation microbiologique et à l'observer des micro-organismes pour produire des éléments : quel rôle jouent les différents micro-organismes ?

Ces transformations sont appelées biologiques parce qu'elles nécessitent l'action de très petits organismes (micro-organismes), les ferments, uniquement visibles ou microscopiques.

3. BUT DU TRAVAIL

Le but est de promouvoir les racines de *Munkoyo* comme sources d'enzymes amylolytiques, de proposer les pistes pour optimiser et industrialiser le procédé de fabrication de la boisson et, par conséquent, apporter un revenu supplémentaire aux populations locales.

4. INTERET DU SUJET

L'intérêt de ce travail réside dans le fait qu'il permettra aux chercheurs et aux entrepreneurs dans l'élaboration des documents et dans la réalisation une production alcoolique sur la valeur nutritionnelle de Munkoyo. Les biens alimentaires constituent le premier besoin de l'humanité et la sécurité alimentaire se doit être considérée comme un bien public mondial. Dans un monde globalisé, les choix et les actions dans un pays peuvent avoir des conséquences sur la sécurité alimentaire dans les autres parties du pays.

Au-delà de leurs intérêts particuliers, tous les pays s'accordent pour considérer que la sécurité alimentaire est essentielle à la paix et à la sécurité.

5. HYPOTHESES

Dans le cadre de notre travail, nous émettons deux hypothèses :

- ❖ Les amylases contenues dans les racines de Munkoyo ont une grande influence efficace sur l'hydrolyse de l'amidon de *Dioscorea alata* ;
- ❖ Les rôles joués les différents micro-organismes contribuent à la variation du goût et à la commercialisation de la boisson *Munkoyo*.

6. CANEVAS

Hormis l'introduction et la conclusion générale, le présent travail est subdivisé en trois chapitres : le premier chapitre traite des généralités sur les concepts de base, le deuxième chapitre se consacre au cadre pratique c'est-à-dire matériel et méthodes et le troisième chapitre présente les résultats et les discussions.

CHAPITRE I. GENERALITES

I.1. DIOSCOREA ALATA

Une igname est un nom vernaculaire ambigu désignant en français plusieurs espèces de plantes appartenant au genre *Dioscorea*, famille des Dioscoreaceae, cultivées dans toutes les régions tropicales du globe, dans un but alimentaire, pour leurs tubercules riches en amidon, (Nelson-white T.et al., 2013).

I.1.1. Description

Ce sont des plantes grimpantes, volubiles, souvent dioïques. Les feuilles pétiolées, cordiformes, sont selon les espèces alternes ou opposées. A leur aisselle se développent des bulbilles pouvant servir à la multiplication de la plante, et parfois consommables (*Dioscorea bulbifera*). Inflorescences axillaires sont des grappes ou des épis ; les fleurs femelles, trimères, à ovaire infère triloculaire donnant des samares à trois ailes, (Nelson-white T.et al., 2013).

Les tubercules de forme variable, ovoïde à oblongue, parfois aplatie ou en forme de massue allongée, peuvent atteindre 1m de longueur et leur poids, généralement de 3 à 5 Kg, aller jusqu'à 15 kg. Ils sont garnis d'yeux comme les pommes de terre. La peau est généralement jaune, mais peut être presque blanche ou plus foncée de brunâtre à noirâtre. La chair est généralement blanche parfois jaunâtre, (Nelson-white T.et al., 2013).

I.1.2. Composition

La composition chimique des tubercules est voisine de celle des pommes de terre avec environ 25% d'amidon, mais un peu plus de protéines (environ 7%, quatre fois plus que le manioc). Ils sont très pauvres en matières grasses et en minéraux, et assez riche en vitamine C. (Nelson-white T.et al., 2013).

Certaines variétés, utilisées par l'industrie pharmaceutique, contiennent des substances de trois types :

1. Des alcaloïdes, dont la dioscorine ;
2. Des tanins ;
3. Des sapogénines, dont la diosgénine qui est aussi utilisée en laboratoire avec d'autres composants pour la préparation de stéroïdes, analogues en particulier de la cortisone, à la progestérone et à des œstrogènes, une fois transformée.

La diosgénine naturelle de l'igname quant à elle, a montré dans différentes études qu'elle intervient comme antioxydant lipophylique et contribue à la bonne transformation des stérols alimentaires, eux-mêmes sources des hormones stéroïdes endogènes. Les espèces d'ignames pour l'usage alimentaire ou en complément alimentaire sont principalement *Dioscorea alata* et *Dioscorea opposita*. Les peuples autochtones en font également de la bière traditionnelle, tel le Kalili de Guyane, (Nelson-white T. et *al.*, 2013).

1.1.3. Principales espèces cultivées

Une « igname » représente le genre *Dioscorea* dont le tubercule est comestible. D'autres espèces de ce genre ont un tubercule toxique et ne sont pas nommées ainsi :

- L'igname ailée ou grande igname, *Dioscorea alata* L. ;
- L'igname de chine, ou shanyao, *Dioscorea polystachya* Turcz ;
- L'igname amère, *Dioscorea dumetorum* ;
- L'igname rouge, *Dioscorea pentaphylla* L. ;
- L'igname bulbifère, hoffe, pomme en l'air ou masako, *Dioscorea bulbifera* L. ;
- L'igname de guinée blanche, *Dioscorea rotundata* Poir., est la plus cultivée de nos jours.

1.1.4. Usages

Les ignames sont une culture importante dans le monde. Les tubercules riches en amidon sont consommés presque exclusivement dans les régions tropicales.

Les ignames se consomment cuites, braisées, ou frites. Selon les espèces et variétés, le goût est très variable, très agréable, tendre et sucré dans certains cas, farineux, à goût de châtaigne le plus souvent. Certaines espèces sont âcres ou amères, mais non toxiques, (Nelson-white T. et *al.*, 2013).

I.2. RHYNCHOSIA INSIGNIS (O.HOFFM.) R.E.FR.

I.2.1. Description botanique de la plante

Les racines de Munkoyo sont ligneuses et proviennent de plantes appartenant à la famille des Fabaceae. Les plantes de Munkoyo sont regroupées en trois genres : *Eminia*, *Rhynchosia* et *Vigna*. En R.D. Congo, les plantes de Munkoyo identifiées sont *Eminia holubii* (Hemsl.) Taub. (synonyme *Eminia polyadenia* Hauman), *Eminia harmsiana* De Wild., *Rhynchosia insignis* (O.Hoffm.) R.E.Fr. subsp. *insignis*, *Rhynchosia insignis* (O.Hoffm.) R.E.Fr. subsp. *affinis* (De Wild.) Pauwels et *Vigna nuda* N.E.Br. Dans la région zambézienne, d'autres plantes ont été identifiées : *Eminia antennulifera* (Baker) Taub. (Malawi, Mozambique, Zambie, Tanzanie et Zimbabwe), *Eminia benguellensis* Torre (Angola), *Rhynchosia venulosa* (Hiern) K.Schum. (Afrique du Sud) et *Rhynchosia heterophylla* Hauman (Zambie, R.D. Congo et Tanzanie) (Delaude et *al.*, 1993).

Tableau I. Ajustement entre taxonomie botanique et noms vernaculaires des plantes de Munkoyo en R.D. Congo

Plante	Noms vernaculaires selon différentes tribus
<i>Eminia holubii</i>	Mulaba, Kamena-kinshinki, Totuntuba, milaba, mulab,...
<i>Eminia harmsiana</i>	Kikubukubu, parfois mulaba, kifunfula
<i>Rhynchosia insignis</i> subsp. <i>Insignis</i>	Kalunge, Kelunge, kailunge, Tulungu, Ntulungu, Karungrung, Ninkoy, Mufundula, Mufunda, Kafutangulube, Kafuta butonge, Kilala-ngulube
<i>Rhynchosia insignis</i> subsp. <i>Affinis</i>	Ma(n)funawila, Biko(n)kolo, Kakokolo, Kisabanyunda, Kisaba, Kitondo, Mulunge, Kailunge, Katoletole, Kalamatche, milunge, malunge
<i>Vigna nuda</i>	Munkoyo

(Source: Adjustment between botanical taxonomy and common names of Munkoyo plants in D.R. Congo (Delaude et *al.*, 1993)).

Les populations locales distinguent les plantes de *Munkoyo* par leurs feuilles, leurs tiges et leurs racines. Chaque espèce possède un nom vernaculaire particulier selon le groupe ethnique (**Tableau I**), même si le terme « *Munkoyo* » est attribué à toutes les racines employées pour la fabrication de la boisson. Pauwels et *al.*, (1992) ont établi deux clefs pour distinguer les plantes : la première est basée sur le spécimen fleuri et la seconde, peu classique, sur les racines.

Cependant, la description de différents organes (racine, feuille, tige, fleur et gousse) ont permis de distinguer et de classer les espèces et les sous-espèces (**Tableau II**), (NDAGANO D. et *al.*, 2011).

I.2.2. Distribution et propagation de la plante

Les plantes de *Munkoyo* sont présentes uniquement dans la région zambézienne (R.D. Congo, Zambie, Zimbabwe, Angola, Tanzanie, Malawi, Namibie, Botswana et Mozambique). En R.D. Congo, les plantes de *Munkoyo* sont observées au sud de la province du Katanga (frontalière à la Zambie). Elles poussent dans les forêts claires et les savanes arbustives, mais elles n'ont pas toutes la même distribution géographique.

Eminia spp. pousse sur des sols ferrallitiques et argileux, parfois même rocaillieux des flancs des montagnes. Par contre, *R. insignis* est moins exigeante, elle peut aussi se retrouver dans la steppe herbeuse inondée périodiquement (Delaude et *al.*, 1993). Sur base des données climatiques, les plantes de *Munkoyo* peuvent être introduites dans d'autres régions d'Afrique sub-saharienne telles que le plateau de Jos au Nigeria, le massif de l'Amadoua au Cameroun et en République Centrafricaine, le sud du Soudan dans le massif frontalier de l'Ouganda, le sud-ouest de l'Éthiopie, le sud-est et le nord-ouest du lac Nyassa, à la frontière Mozambique-Zambie-Malawi et dans le Fouta Djallon en Guinée, (Ergo et *al.*, 1994).

Malgré l'exploitation intense dans la province du Katanga, la culture de plantes de *Munkoyo* n'est pas encore développée. Dans ce contexte, une étude a été menée sur la possibilité de multiplier les plantes de *Munkoyo* par éclats de souches et par semis de graines (Delaude et *al.*, 1993).

Le meilleur rendement de culture a été obtenu avec *E. holubii*. Les essais de multiplication d'*E. holubii* par les éclats de souches produisent une moyenne de 1,8 kg de racines par plante en 26 mois et par semis de graines, une moyenne de 1,3 kg de racines par plante en 14 mois. Cette étude montre que les plantes d'*E. holubii* se multiplient facilement par semis et produiraient 50 à 100 t de racines par hectare au terme de la cinquième année, (NDAGANO D. et *al.*, 2011).

Tableau II. Résumé de la description botanique des cinq plantes couramment utilisées dans le procédé de fabrication du Munkoyo

Organes	<i>Eminia harmsiana</i>	<i>Eminia holubii</i>	<i>Rhynchosia insignis</i> subsp. <i>insignis</i>	<i>Rhynchosia insignis</i> subsp. <i>affinis</i>	<i>Vigna nuda</i>
Racines	Racines de 5 à 7 cm de diamètre ; bois et fibres de couleur ocre pâle, au gout amer	Racines de 5 à 10 cm de diamètre ; bois et fibres de couleur blanche, juteux, à odeur fade et désagréable	Racines formées de petits fuseaux, de 1,5 cm de diamètre, reliés par des rhizomes, bois jaune et au gout de réglisse	Racines formées par un pivot de 5 à 6 cm de diamètre émettant 3 à 4 racines horizontales de plus faible diamètre, bois jaunâtre	Racines traçantes de 1 à 1,5 m de long et de 1 à 1,5 cm de diamètre ; bois blanchâtre
Tige	Herbacée, dressée, couverte de poils roux, atteignant 1,40 m de haut ou étalée	Herbacée, dressée, cannelée, creuse vers la base, grisâtre, atteignant 1,60 m de haut	Herbacée, dressée de 40 à 60 cm de haut, diamètre de 2 mm, stipules de 1 à 2 mm de large, caduque	Herbeuse, dressée, de 1,40 m de haut, diamètre de 6 mm, stipules de 2 à 3 mm de large ; plus persistante	Herbacée, rampante ou volubile
Feuilles	3-foliolées : foliole médiane ovale à sommet arrondi et à base légèrement cordée	à nervures secondaires pennées couvertes d'une pilosité dense argentée ; folioles de forme rhomboïque et à bord ondulé	3-foliolées et caduques, nervation tertiaire non cachée par les poils	3-foliolées ± persistantes, à pilosité feutrée rousse ou argentée, cachant la nervation tertiaire	3-foliolées ; limbe peu velu
Fleurs	Calice couvert d'un duvet roux ; corolle bleu-mauve	Corolle de couleur bleue	Calice à tube de 3 mm de long ; segments subégaux de 2 mm de long ; poils courts peu abondants, corolle jaune vif	Calice à segments plus longs que le tube ; poils longs apprimés ; peu de glandes ; corolle jaune vif	Calice denté ; corolle rose virant au jaune pâle en vieillissant
Gousses	Velues, 2 graines, arrondies-anguleuses, aplaties de couleur brun mat, à surface chagrinée	Très velues, idem <i>E. harmsiana</i>	Montrant un dessin réticulé mauve et contenant 2 graines	Fortement velues et contenant 2 graines	Linéaires de 6 à 8 cm de long, contenant 8 à 10 graines oblongues de

(Source : (NDAGANO D. et al., 2011).

I.2.3. Sources d'enzymes amylolytiques

(A) Accumulation des enzymes amylolytiques

Les racines de Munkoyo accumulent des concentrations en enzymes amylolytiques comparables. Cette accumulation ne requiert pas une germination préalable (Tiendrebreggo, 1981 ; Delaude et *al.*, 1993). Comparativement à d'autres plantes apparentées, l'abondance de ces enzymes amylolytiques dans les racines de Munkoyo est également une particularité.

Le **tableau III** montre que les racines de *Munkoyo* sont plus riches en activités amylases que les Fabaceae apparentées au genre *Rhynchosia* récoltées au Burundi et en R.D. Congo. À ce jour, aucune étude ne traite du processus d'accumulation et du rôle des enzymes dans les racines de Munkoyo. Pour les grains de céréales (orge, maïs, blé, sorgho, etc.) et certaines graines de légumineuses (soja et haricots), l'accumulation et/ou l'activation des enzymes amylolytiques requiert une germination contrôlée, appelée le maltage, (NDAGANO D. et *al.*, 2011).

Le maltage permet de produire les enzymes amylolytiques qui dégradent la réserve d'amidon en sucre, source d'énergie pour le germe (Subbaro et *al.*, 1998 ; Gupta et *al.*, 2010). Les racines de Munkoyo, constituées de fibres à plus de 75 % (Simwamba et *al.*, 1986), n'ont probablement pas des évolutions physiologique et biochimique similaires. Pour les racines tubéreuses, l'accumulation des enzymes amylolytiques demeure également inexplicée.

Selon Gana et *al.*, (1998), elles seraient des protéines de réserve parce qu'il n'existe pas une corrélation entre l'évolution de la concentration de l'amidon et de l'activité amylasique durant le cycle de vie de la plante. Dans les racines de *R. venulosa*, Simwamba et *al.*, (1986) ont observé que les enzymes amylolytiques représentent la majorité des protéines.

Par conséquent, les enzymes pourraient être également des substances de réserve dans les racines de Munkoyo. D'autre part, aucune étude ne traite de la présence de l'amidon, alors que les racines de Munkoyo contiennent des sucres. Le **tableau III** montre que les racines d'*E. holubii* et de *R. insignis* contiennent du glucose, du fructose, du maltose (uniquement chez *E. holubii*) et du saccharose.

L'accumulation des enzymes amylolytiques et la présence de sucres dans les racines de Munkoyo permettraient donc à la plante de lutter contre l'impact de la rigueur du climat, (Tiendrebreggo, 1981 ; Delaude et *al.*, 1993).

(B) Les différentes activités amylolytiques

Selon l'étude faite sur les racines d'*E. holubii*, le complexe amylolytique, constitué de l' α et la β -amylase, la limite-dextrinase et la β -glucanase, est similaire à celui du malt d'orge. Comme chez les céréales et d'autres végétaux, les α - et β -amylases sont les enzymes amylolytiques prépondérantes dans les racines de Munkoyo. Les proportions des activités α - et β -amylases varient selon les genres, (Tiendrebreggo, 1981 ; Delaude et *al.*, 1993).

La concentration en activité β -amylase dans les racines d'*Eminia* sp. est supérieure à celle de *Rhynchosia* sp. Pour les racines de *V. nuda*, le ratio β -amylase/ α -amylase est plus élevé, mais la plante est difficilement exploitable en raison du faible diamètre des racines (**Tableau 2**). D'autre part, le ratio β -amylase/ α -amylase dans les racines de Munkoyo est supérieur à celui du malt d'orge.

En considérant le diamètre des racines et le rendement de culture, les racines d'*E. holubii* sont des sources d'amylases équivalentes au malt d'orge (Delaude et *al.*, 1993).

(C) Propriétés des α - et β -amylases.

Les études des propriétés des α - et β -amylases de racines de Munkoyo sont menées essentiellement sur les effets de la température et du pH. La caractérisation concerne les enzymes partiellement purifiées d'*E. holubii* et les extraits de racines de *R. insignis insignis* (Tiendrebreggo, 1981 ; Mulkay et *al.*, 1985). Le pH optimal de l' α -amylase de *R. insignis insignis* et d'*E. holubii* est de 5,2 (Tiendrebreggo, 1981 ; Mulkay et *al.*, 1985), valeur comparable à celle du malt de céréales (pH 4,5-5,5) (Brena et *al.*, 1996 ; Muralikrishna et *al.*, 2005).

Le pH optimum de la β -amylase de racines d'*E. holubii* est également de 5,2 (Tiendrebreggo, 1981), donc très voisin de celui du malt d'orge (pH 5,7) (Brena et *al.*, 1996). Les températures optimales des activités α -amylases d'*E. holubii* et de *R. insignis insignis* sont respectivement de 78 °C et 50-55 °C (Tiendrebreggo, 1981 ; Mulkay et *al.*, 1985).

Comme les études sont faites sur des enzymes partiellement purifiées, les valeurs d'*E. holubii* pourraient être comparables à celles de la fève de soja et de *Vigna angularis* (70 °C) et celles de *R. insignis* subsp. *insignis*, aux malts de blé et de millet (entre 40 et 55 °C), (Tiendrebreggo, 1981 ; Mulkay et al., 1985).

Tableau III. Concentration en sucres dans les extraits de racines de Munkoyo (% p/v)

Sucre	<i>Rhynchosia insignis</i>	<i>Eminia holubii</i>	Malt
Fructose	2,09	6,88	3,31
Glucose	0,63	6,89	11,59
Saccharose	2,09	4,17	0,69
Maltose	-	3,96	11,67

Source : (Mulkay et al., 1985).

I.3. AMIDON

L'amidon (du latin *amylum*, non moulu) est un glucide complexe (polysaccharide) composé de chaînes de molécules de D-glucose. Il s'agit d'une molécule de réserve pour les végétaux supérieurs et un constituant essentiel de l'alimentation humaine, (Codex Alimentarius, 1989).

I.3.1. Origine botanique

L'amidon se trouve dans les organes de réserves de nombreuses plantes :

- ✓ les graines (en particulier les céréales (maïs, froment) et les légumineuses,
- ✓ les racines,
- ✓ les tubercules et rhizomes (pomme de terre, patate douce, manioc, etc.) ; dans ce cas il est appelé fécule,
- ✓ les fruits (banane) où l'amidon a pour fonction de stimuler la dispersion des graines (quand il y en a) par des animaux.

I.3.2. Structure de l'amidon

L'amidon est un mélange de deux homopolymères, l'amylose et l'amylopectine composés d'unités D-anhydroglucopyranose (AGU) qui appartiennent à la famille des polysaccharides (ou polysides) de formule chimique générale

$(C_6H_{10}O_5)_n$. Les unités AGU sont liées entre elles par des liaisons α (1-4), en général caractéristiques des polyosides de réserve (à l'exception de l'inuline) et des liaisons α (1-6) qui sont à l'origine de ramifications dans la structure de la molécule, (Codex Alimentarius, 1989).

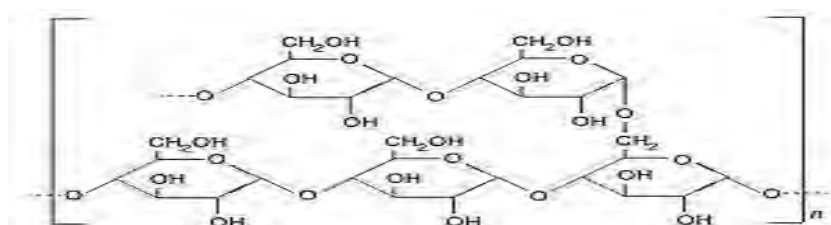


Figure 1-1 Structure de l'Amidon

Source : (Codex Alimentarius, 1989).

Tableau IV. Structure de l'amylopectine

Identification	
N° CAS	9005-25-8
N° EINECS	232-679-6
Apparence	poudre blanche inodore ¹
Propriétés chimiques	
Formule brute	$(C_6H_{10}O_5)_n$
Propriétés physiques	
T° fusion	200 °C (décomposition) ¹
Solubilité	50 g·l ⁻¹ (eau, 90 °C) ¹
Masse volumique	550 à 700 kg·m ⁻³ ¹ 1,5 g·cm ⁻³ ²
T° d'auto-inflammation	environ 400 °C ¹
Écotoxicologie	
DL₅₀	6 600 mg·kg ⁻¹ (souris i.p.) ³
Unités du SI et CNTP, sauf indication contraire.	

Source : (Codex Alimentarius, 1989).

Ces deux homopolymères, qui diffèrent par leur degré de branchement et leur degré de polymérisation sont :

- **Amylose** : légèrement ramifié avec de courtes branches et dont la masse moléculaire peut être comprise entre 10 000 et 1 000 000 Dalton. La molécule est formée de 600 à 1 000 molécules de glucose.

- **Amylopectine ou isoamylose** : molécule ramifiée avec de longues branches toutes les 24 à 30 unités glucose par l'intermédiaire des liaisons α (1-6). Sa masse moléculaire peut aller de 1 000 000 à 100 000 000 Dalton, selon les estimations scientifiques et son niveau de branchement est de l'ordre de 5 %. La chaîne totale peut faire entre 10 000 et 100 000 unités glucose, (Codex Alimentarius, 1989)).

Le ratio entre l'amylose et l'amylopectine dépend de la source botanique de l'amidon. Parfois, il y a aussi présence de phytoglycogène (entre 0 et 20 % de l'amidon), un analogue de l'amylopectine mais ramifié tous les 10 à 15 résidus glucose, (Source : www.chem.qmul.ac.uk).

1.3.3. Biosynthèse

Les plantes produisent l'amidon en convertissant d'abord le glucose-1-phosphate en ADP-glucose grâce à l'enzyme glucose-1-phosphate adenylyltransferase. L'enzyme synthase de l'amidon ajoute ensuite l'ADP-Glucose à une chaîne en croissance d'unités AGU via les liaisons α (1-4), libérant de l'ADP et créant l'amylose. L'enzyme de branchement de l'amidon crée des liaisons α (1-6) entre ces chaînes, créant la molécule d'amylopectine. Plusieurs formes de ces enzymes existent, ce qui rend la biosynthèse de l'amidon extrêmement complexe, (Codex Alimentarius, 1989).

La formation de l'amidon au sein des plantes trouve son origine dans le processus de la photosynthèse. Ce mécanisme physiologique permet aux plantes de produire et de stocker le glucose (sucre élémentaire) qui est nécessaire à leur croissance et à leur reproduction, (Source : Usipa).

Dans un premier temps, la plante assimile le carbone de l'atmosphère et le transforme en glucose, la molécule de base. Celle-ci est ensuite utilisée pour la photosynthèse de l'amidon, polymères associés de glucose pur, (Source : Usipa).

1.3.4. Grains d'amidon de l'igname

Le grain d'amidon se présente sous forme de granules semi-cristallins : l'amylopectine est organisée en feuillets et forme ainsi la zone cristalline, tandis que l'amylose forme une zone amorphe entre les différents feuillets.

Les propriétés des amidons sont bien connues, même si les connaissances continuent de progresser dans la compréhension des bases physico-chimiques de leurs applications, (Source : Usipa).

1.3.5. Propriétés chimiques

L'amidon est insoluble dans les solvants aqueux dans des conditions normales de température et de pression. Des traitements acides, basiques ou la sonication permettent toutefois de pallier cela mais sont en réalité destructeurs pour les molécules de l'amidon. Dans le cas des solvants organiques, l'amidon est soluble dans le diméthylsulfoxyde dans des conditions douces; l'ajout de sel (bromure de lithium ou chlorure de lithium) permet d'empêcher la rétrogradation de l'amylose, phénomène durant lequel les molécules d'amylose tendent à se rassembler dans des zones amorphes en suspension, (source : www.azaquar.com).

En suspension dans l'eau, on obtient du lait d'amidon, suspension instable mais qui, chauffée à 70 °C, devient visqueuse et translucide. Au contact d'une solution iodo-iodurée, un amidon contenant de l'amylose prendra une teinte violette par complexation des ions.

L'amidon ne peut pas réduire la liqueur de Fehling, car sa fonction aldéhyde (R-CHO) réductrice est « masquée » en acétal (RO-CH-RO). La molécule seule d'amylose s'organise en une hélice droite à six glucoses par tour.

1.3.6. Digestion de l'amidon

Lors de la digestion, les molécules d'amidon se dissocient en chaînes glucanes linéaires, elles-mêmes dissociées en glucoses simples et assimilables par le système digestif. Les amylases, présentes dans la salive ainsi que dans le suc pancréatique, permettent l'hydrolyse de l'amidon en dextrines (dont l'isomaltose), maltose (un diholoside) et glucose (un ose). Par la suite dans l'intestin, deux enzymes, la maltase et l'isomaltase, finissent l'hydrolyse des dextrines et du maltose en glucose, (Codex Alimentarius, 1989).

La digestion est d'autant plus rapide que la proportion d'amylopectine est importante et celle d'amylose faible dans l'amidon digéré. En effet, la formation hélicoïdale de l'amylose ne favorise pas l'accessibilité des enzymes. L'utilisation dans l'industrie agroalimentaire d'amidons à fort taux d'amylose permet ainsi de produire des aliments à faible indice glycémique, qui ne favorisent pas le diabète.

Les amylases catalysent l'hydrolyse de l'amidon, polymère du glucose. La molécule d'amidon est en effet constituée de molécules de glucose enchaînées les unes aux autres. Ce corps représente la principale forme de réserve des glucides

produits par les plantes au cours de la photosynthèse. On le trouve dans les graines et dans les organes de réserve comme les tubercules de pommes de terre, tubercules de l'igname.

À noter que chez les plantes de la famille des Astéracées et chez les animaux, la molécule de réserve n'est pas l'amidon, mais respectivement l'inuline et le glycogène, (source : www.azaquar.com).

1.3.7. Utilisations industrielles

Les débouchés industriels sont essentiellement l'agroalimentaire à travers l'industrie des boissons, confiseries, boulangeries, l'industrie chimique qui l'utilise dans les procédés de fermentation pour la production de bioéthanol, les traitements de surface, la formulation de colles, l'encapsulation de produits pharmaceutiques, les cosmétiques, la papeterie et les matières plastiques biodégradables. L'empois d'amidon était aussi utilisé autrefois, pour l'empesage des vêtements. L'amidon de pomme de terre est également utilisé comme excipient dans divers médicaments sous forme comprimées, (Amidon, 2009).

L'amidon issu de céréales est utilisé pour produire des édulcorants, tels que le sirop d'orge malté, le sirop de maïs, le sirop de riz brun ou encore le sirop de maïs à haute teneur en fructose.

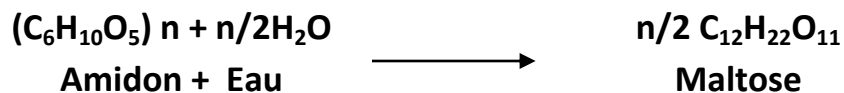
L'amidon, principalement extrait de la pomme de terre, est souvent transformé à des fins industrielles et peut subir différentes modifications :

- Les modifications physiques : précuisson sur cylindre, en extrusion ou en tour d'atomisation.
- Les modifications physico-chimiques : dextrination à haute température et à pH extrêmes.
- Les modifications chimiques : réticulation et substitution.
- Les modifications biologiques : hydrolyse contrôlée par des systèmes enzymatiques.

Par ailleurs, la société BASF a récemment développé une pomme de terre modifiée génétiquement, l'Amflora, riche en amylopectine, pour faciliter l'exploitation industrielle de l'amidon, (Amidon, 2009).

I.4. HYDROLYSE DE L'AMIDON PAR LES AMYLASES

La mobilisation de cette réserve lors de la reprise d'activité est assurée par les amylases. Ces enzymes sont également présentes dans les sucs digestifs des consommateurs animaux ; par exemple chez l'homme, dans la salive, le suc pancréatique et le suc intestinal. L'amylase coupe la molécule d'amidon à l'intérieur des chaînes ; la bêta-amylase coupe aux extrémités ne libérant des molécules de maltose, dimère du glucose, (Portail de la Biochimie).



Suivi de la réaction, l'amidon (substrat) est coloré en bleu par l'iode (réaction Iodo-ioduré), alors que le maltose (produit) ne l'est pas.

Dans la digestion et l'absorption des oses : sources de glucide, il existe deux types d'enzymes amylases :

- Alpha amylase : on le trouve au niveau de la salive, au niveau du suc pancréatique et les graines des céréales germés ;
- Beta amylase : on le trouve uniquement chez les végétaux.

1.4.1. Alpha-amylase

L' α -amylase (ou diastase ou takadiastase) fut la toute première enzyme qui fut découverte en 1833 par Anselme Payen et Jean-François Persoz.

L' α -amylase est une enzyme digestive classée comme glycosidase (enzyme qui hydrolyse les polysaccharides). C'est un constituant du suc pancréatique et de la salive ; requis pour le catabolisme des glucides à longue chaîne (comme l'amidon) en unité plus petites, (Source : www.axcan.com).

Elle est également synthétisée dans les fruits de beaucoup de plantes durant leur maturation (c'est ce qui rend leur goût si doux et sucré), et aussi pendant la germination des graines.

L'alpha-amylase salivaire semble cependant représenter un marqueur salivaire bien caractérisé pour l'activité du système. L'amylase est entre autres responsable de la production de malt, (Source : www.Ibl-transatlantic.com).

(A) Types

Il y a deux iso-enzymes de l'amylase : l'amylase salivaire (ou amylase 1) et l'amylase pancréatique (ou amylase 2 ou ptyaline). Elles se comportent différemment au focusing isoélectrique, et peuvent être séparées en testant par les anticorps monoclonaux spécifiques, (Portail de la Biochimie).

(B) Mécanisme d'action

L' α -amylase brise les liaisons α (1-4) glycosidiques à l'intérieur des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine pour ultimement donner des disaccharides de α -glucose.

L'enzyme peut être détectée en la mélangeant à son substrat pour obtenir un ou plusieurs produits. Dans ce cas, cette enzyme possède un substrat qui est l'amidon. Ces produits seront le maltose, sucre (diholoside) réducteur qui pourra être détecté grâce à la liqueur de Fehling en formant un précipité rouge brique, à chaud (80 à 90 °C) et à pH neutre, (source : www.axcan.com).

En général, une quantité d'enzymes plus de 10 fois supérieure à la normale est un des symptômes de la pancréatite.

1.4.2 Beta-amylase (α -D 1,4 glucanne maltohydrolase EC:3.2.1.2)

Ce sont des enzymes qu'on trouve en abondance chez les végétaux où elles sont constitutives alors que l'amylase est induite (production au moment de la sortie de dormance des graines), (source : www.azaquar.com).

Elles ont été tout récemment caractérisées chez les micro-organismes, mais n'ont pas été caractérisées chez l'animal. Les propriétés physico-chimiques de ces dernières les rendent plus aptes pour une utilisation industrielle (stabilité augmentée au pH, à la température), (source : www.azaquar.com).

(A) Propriétés de quelques bêta amylases

Ces exo-enzymes sont capables de couper les liaisons 1,4 glycosidiques à partir de l'extrémité terminale non réductrice des chaînes saccharidiques (amylose ou amylopectine).

Les amylases vont produire sélectivement du maltose qui possédera au moment de sa libération du site de catalyse une configuration de maltose

(inversion de Walden). La β -amylase peut présenter une attaque monochaîne, elle va hydrolyser la totalité de la chaîne avant de passer à une autre chaîne. L'attaque peut être multichaîne après la libération d'un résidu maltose d'une chaîne, l'enzyme passe sur une autre extrémité pour effectuer l'hydrolyse. L'amylose est hydrolysé à 100% alors que l'amylopectine ne sera hydrolysée qu'à 55-60%, (Portail de la Biochimie).

(B) Mécanisme d'action

En effet l'hydrolyse va s'arrêter quand le système enzymatique rencontrera un point de ramification car l'enzyme est incapable de couper les liaisons 1,6. L'enzyme s'arrête de fonctionner 3 à 4 résidus glucose avant le point de branchement. On obtient ainsi des dextrines limites dont la taille est plus importante que celles obtenues dans le cas de l'hydrolyse par l'amylase.

La β -amylase est considérée comme une enzyme saccharifiante. Il existe d'autres exo amylases susceptible de fournir des malts oligosaccharides dont la structure est homogène, (Portail de la Biochimie).

1.4.3. Spécificité des exo amylases

L'utilisation de l' α (alpha) et de la β -amylase permet d'obtenir des fractions riches en maltose mais renfermant aussi des dextrines limites dues à la présence des ramifications.

Pour l'industriel, il peut s'agir de frein important et nécessiter de dépolymériser complètement l'amidon. Pour obtenir une action maximale des enzymes on associe généralement des enzymes de débranchement ce qui permettra d'obtenir uniquement des enchaînements linéaires, (Source : www.axcan.com).

I.5. VALEUR NUTRITIONNELLE, SUBSTANCES ANTI-NUTRITIONNELLES ET TOXICOLOGIE

Le Munkoyo devrait être considéré comme une boisson énergétique. Dans les boissons fermentées à base de céréales, les matières solides en suspension, constituées de gruaux de grains non gélatinisés, représentent la matière sèche et sont les sources en calories. Selon Steinkraus (2004), le mahewu, boisson à base de maïs contenant 10 % de matières sèches, apporte 4000 kJ.l⁻¹ de calories. Le Munkoyo pourrait être une boisson plus énergétique étant donné que la matière sèche est de l'ordre de 6,3 à 14,1 % (Tableau V). Comme toutes les boissons fermentées à base

de céréales, la valeur nutritive du Munkoyo est inférieure aux produits laitiers. Le Munkoyo contient de faibles teneurs en protéines (0,31-0,80 %), en fibres (0,04-0,32 %), en acides aminés (1,40 mg.g⁻¹), en vitamines et en minéraux (0,05-0,34 %) (Tableau V). Pour les protéines, cela s'explique par leurs faibles teneurs dans les grains de céréales, en moyenne 10 % (Shewry, 2007), et la faible proportion de la farine de céréales dans la boisson.

Pour améliorer la valeur nutritive des boissons fermentées à base de céréales, Hesseltine (1979) et Steinkraus (1983) proposent l'enrichissement en protéines en additionnant des grits de soja, de la farine de poisson, du petit lait, ou autres suppléments riches en protéines. Le Munkoyo contient des vitamines, les vitamines B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B6 (pyridoxine), B12 (cobalamine) et B5 (acide pantothénique) (Tableau V).

Bien que le processus de fermentation permette l'amélioration de la disponibilité de certaines vitamines telles que la riboflavine, la thiamine, la niacine et l'acide ascorbique (Jespersen, 2003), les concentrations en vitamines restent faibles dans les boissons fermentées. D'après Steinkraus (2004), l'étape de cuisson (empâtage) détruit 30 % des vitamines. Pour améliorer l'apport en vitamines, Steinkraus (1983) propose une supplémentation en levure sèche dans la boisson.

Aucune étude ne traite de la présence des substances anti-nutritionnelles dans le Munkoyo. Toutefois, il est connu que la fermentation spontanée de produits à base de céréales permet de réduire la concentration des substances anti-nutritionnelles telles que les phytates, tannins, polyphénols et les poly- et oligosaccharides non digestibles (Blandino et *al.*, 2003).

Tableau V. *Composition chimique de la boisson Munkoyo*

Constituants	<i>Munkoyo</i> alcoolisé ^a	<i>Munkoyo non</i> alcoolisé ^a	<i>Munkoyo</i> de maïs ^b	<i>Munkoyo</i> de sorgho ^b	<i>Munkoyo</i> d'éléusine ^b
Humidité (%)	93,0 (90,1-95,3)	88,6 (87,5-89,9)	-	-	-
Solides (%)	6,25 (4,64-9,53)	14,10 (13,03-15,61)	3,92	3,72	6,83
Protéines (%)	0,588 (0,312-0,804)	0,682 (0,473-0,976)	0,58	0,503	0,67
Azote (mg)	-	-	93,36	80,44	107,28
Matières grasses (%)	0,93 (0,12-1,49)	1,08 (0,36-1,69)	0,22	0,105	0,163
Minéraux (Cendres) (%)	0,159 (0,051-0,339)	0,080 (0,064-0,092)	-	-	-
Fibres (%)	0,11 (0,04-0,32)	0,15 (0,12-0,21)	-	-	-
Hydrate de carbone total (%)	4,57 (3,34-7,27)	12,26 (10,79-14,18)	-	-	-
Sucres totaux en glucose (g)	-	-	0,75	0,85	0,72
Sucres réducteurs (%)	-	-	0,56	0,494	0,58
Calcium (mg·100 ml ⁻¹)	4,7 (3,3-7,1)	3,7 (3,2-4,4)	1,45	0,78	8,28
Phosphore (mg·100 ml ⁻¹)	-	-	3,64	6,97	16,53
Fer (mg·100 ml ⁻¹)	-	-	1,37	0,63	2,73
Vitamine C (mg·100 cc ⁻¹)	-	-	0,80	1,40	-
Vitamine B1 (Thiamine) total (μg·100cc ⁻¹)	-	-	6,99	4,00	-
Vitamine B2 (Riboflavine) (μg·100cc ⁻¹)	-	-	33,80	73,40	-
Vitamine B6 (Pyridoxine) (μg·100cc ⁻¹)	-	-	14,00	7,30	-
Vitamine B12	-	-	2,08	25,00	-
Acide panthoténique total (μg·100cc ⁻¹)	-	-	88,50	170,9	-
Éthanol (% p/v)	2,1 (1,41-2,64)	0,43 (0,39-0,51)	2,4	1,8	2,3
pH	-	-	3,10	3,40	3,70

Sources : ^a: % (g.100 cm⁻³), source : Lovelace (1977) ; ^b : source: Bernier et *al.*, 1959

CHAPITRE II. MILIEU, MATERIEL ET METHODES

II.1. MILIEU

II.1.1. SITUATION GEOGRAPHIQUE

Notre étude et expérience se pratiquaient dans le Laboratoire de Microbiologie et de Physiologie Végétale du Département de Biologie, dans la Faculté des Sciences au sein de l'Université de Kinshasa.

II.1.2. HISTORIQUE DU DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

II.1.2.1. CREATION

L'objectif de la création du Département de la Biologie, sur le plan de l'enseignement et de la recherche, était de doter le Congo-Belge des cadres capables de gérer le pays plus tard. A cet effet, toutes les conditions étaient quasi réunies pour former cette élite attendue. Quant à l'histoire, il faut retenir que la pose de la 1ère pierre de l'Université de Kinshasa jadis Lovanium a eu lieu le 26 septembre 1954. Cette pierre provenait d'un mur de la halle de Louvain, le plus ancien bâtiment de l'Alma mater. On y a gravé la période 14051954 pour symboliser le lien de continuité ou de prolongement par rapport à la jeune Université Lovanium au Congo. Le tout premier bâtiment qui a été érigé c'est celui de la Faculté des Sciences lequel abrite le Département de Biologie, (Critique et histoire de science, 2014).

L'ouverture officielle du Département de Biologie coïncide donc avec l'ouverture de la Faculté des Sciences, c'est-à-dire en 1957. A noter que l'Université de Kinshasa fut l'un des grands partenaires du Jardin Botanique et Zoologique de la Ville-Province de Kinshasa. Ce Jardin fournissait au Département de Biologie des squelettes de divers animaux et des spécimens végétaux. En retour, le Département de Biologie s'occupait de la détermination des animaux, des plantes et incarnait l'autorité scientifique, ce qui n'est malheureusement plus le cas aujourd'hui.

Le site du Mont-Amba fut choisi par les Jésuites de la Paroisse Sainte Marie de Kimwenza. Le site ou la colline du Mont-Amba faisait parti du ressort de la Paroisse de Kimwenza appartenant au Vicariat aujourd'hui Diocèse de Kinsatu.

II.1.2.2. ORGANISATION

Au commencement, le Département de Biologie comptait 4 unités à savoir :

(1) L'unité d'Ecologie et Systématique animale dirigée par le professeur Albert BOUILLON, premier Doyen de la Faculté des Sciences ;

- (2) L'unité d'Hydrobiologie, d'Ornithologie et Physiologie animale dirigée par le Professeur Antoine DE BONT avec ses collaborateurs scientifiques et techniques ;
- (3) L'Unité de Physiologie végétale animée par le Professeur A. Carlier ;
- (4) En fin, l'Unité de Systématique végétale dirigée par le professeur Carlo EVRARD. Aujourd'hui (2010), à tort ou raison, ces grandes unités sont subdivisées en plusieurs unités notamment : Ecologie végétale et animale, Hydrobiologie, Biologie moléculaire, Physiologie végétale, Mammalogie (Eco-éthologie animale), etc.

II.1.2.3. ORGANISATION STRUCTURELLE

II.2.1.1. Organisation administratif du Département de Biologie

Organisation administratif du Département de Biologie n'a pas connu la moindre modification, il est structuré par un Chef de Département qui est le Professeur MALEKANI Jean-Pierre, suivi d'un secrétariat assumé par Madame KABEMBA Odette, ensuite, un Secrétaire chargé de la recherche dirigé par le Professeur MBIMBI MAYI MUNENE Justin-José et enfin un Secrétaire chargé de l'enseignement dirigé par le Professeur MENGA MUNKOLO Pisco.

II.2.1.1.1. Les unités d'enseignement et de Recherche

A l'époque, le Département comptait quatre grandes unités. Aujourd'hui les quatre grandes unités de l'époque de l'Université Lovanium sont subdivisées en plusieurs sous unités de Recherche notamment :

- Unité de botanique, écologie et systématique végétale (Prof. LUKOKI)
- Unité d'hydrobiologie (Prof.)
- Unité de Biologie Moléculaire (Prof. MBEMBA)
- Unité de Microbiologie (Prof. YANDJU)
- Unité d'écologie et systématique animale (Prof. PALATA)
- Unité de physiologie animale (Prof. MALEKANI)
- Unité de physiologie végétale (Prof. LUMANDE)
- Unité de bio prospection (Prof. NGBOLUA)
- Unité d'entomologie (Prof. NAGAHUEDI)
- Unité d'ichtyologie (Prof. MBOMBA)
- Unité de champignons (Prof. DIBALUKA)
- Unité de Biochimie et Biologie Moléculaire (Prof. ITEKU)
- Unité d'Ethnobiologie et Phytosociologie (Prof. ILUMBE)

II.2.1.1.2. Jardin expérimental du Département de Biologie

A fin de mener à bon port ses recherches sur Kikalakasa (Pois carré africain ou *Psophocarpus scandens*), de la culture à la consommation, le Professeur Jacques PAULUS, au même moment qu'il cherchait des fonds pour la construction de l'animalerie, entreprenait également des Recherches des fonds qu'il trouva d'ailleurs pour la construction de la clôture du jardin Expérimental. Le Technicien MAYONI fut le premier responsable du jardin expérimental épaulé par Papa KULUSI, NKOSI, MPUNGI et beaucoup d'autres comme journaliers.

Le Jardin expérimental du Département de Biologie est ouvert pour tout celui qui veut effectuer ses recherches. Il vous suffit d'entrée en contact avec le secrétariat du Département de Biologie.

II.2.1.1.3. Laboratoires

L'organisation de la Faculté des sciences et spécialement le Département de Biologie se présente de la manière suivante :

- Local A37 : Laboratoire de microscopie
- Local A36 : Musée de sciences naturelles
- Local A40 : Laboratoire de biochimie
- Local B28 : Laboratoire de Microbiologie et de Physiologie Végétale
- Local C37 : l'Herbarium.

II.2. MATERIEL

Nous avons utilisé plusieurs matériel entre autres les matériel biologique et le matériel non biologique.

II.1.1. Comme matériel biologique

- Les racines de Munkoyo comme source enzymatique primaire (Amylases) ;
- Les tubercules d'igname comme source amylacée ;
- La levure (*Saccharomyces cerevisiae*) de bière comme ferment ;

II.1.2. Comme matériel non biologique

L'eau potable (Aqua Congo), un plaque chauffante, une planche à découper, 1 kilogramme du sucre blanc pour la fermentation, une balance électronique, les marmites, les râpeuses, la passoire fine, les papiers filtre, les compresses stériles, l'ouates, l'éthanol ou méthanol pour la stérilisation de la paille, l'alcool iodé pour la

détermination de la présence de l'amidon dans le moût, un réfrigérateur pour la congélation, un four pour le séchage, un autoclave pour la stérilisation, les Bechets, les récipients étalon de 100mL, l'Hydromètre pour le taux d'alcool, le papier pH mètre pour le prélèvement du pH du moût, un entonnoir, un tamis, un couteau, les carnets ou blocs note, les stylos pour la rédaction et un ordinateur de la marque HP et un appareil photo numérique de la marque canon pour la prise d'images.

II.3. MÉTHODES

L'étude se réalise en utilisant plusieurs méthodes pour l'obtention des résultats.

II.3.1. OBSERVATION

Elle consiste à observer tout ce qui se passe et ce qui se produit lors de l'expérience au laboratoire.

II.3.2. DOCUMENTATION

Cette approche a permis d'explorer l'information disponible sur notre thème de recherche par la consultation de tous les documents accessibles.

II.3.3. EXTRACTION DE L'AMIDON DE L'IGNAME

Les étapes d'extraction de l'amidon sont les suivantes : l'épluchage, le lavage, le coupage, le râpage, le trempage, le pressage, la décantation, le soutirage, le séchage, le tamisage et conservation.

- **Epluchage** : éplucher l'igname revient à éliminer la peau extérieure à l'aide d'un couteau et enlever la partie supérieure qui est l'écorce tout en trempant le tubercule dans l'eau pour éviter l'oxydation ;
- **Lavage** : laver avec de l'eau potable pour évacuer le sable et les agents externes. Réfère l'opération trois fois à la suite tout en changeant de l'eau ;
- **Râpage** : râper les tubercules à l'aide d'une râpeuse en acier inoxydable à fine maille afin d'obtenir une pâte ;
- **Trempage** : mettre 1/3 de patate + 2/3 d'eau puis faire bouillir ;
- **Pressage** : presser la pâte obtenue à l'aide d'un tissu en coton pour séparer les résidus de l'amidon ;
- **Après ébullition**, faire reposer puis soutirer le surnageant ;
- **Décantation** : consiste à séparer le liquide c'est-à-dire retirer le surnageant et le dépôt dans deux récipient différents ;

- **Mélanger** encore 1/3 de pâte avec 2/3 d'eau puis faire bouillir ;
- **Soutirage** : siphonner délicatement cette eau en utilisant un tuyau de soutirage ;
- **Séchage** : la pâte obtenue doit être séchée à l'étuve à 50°C au plus vite pour éviter qu'elle ne se fermente ou qu'elle ne soit contaminée par des moisissures ;
- **Tamissage** : après être séché, on doit procéder au tamisage du produit sec avec un tamis à mailles fines. L'amidon obtenu est prêt à utiliser ;
- **Conservation** : consiste à garder le produit final dans un bol en plastique ou en verre puis conserver dans un milieu sec.

a) Calcul du Rendement de l'amidon

$$\text{Formule : } r(\%) = \frac{\text{Quantité de l'extrait}}{\text{Quantité de la masse fraise au départ}} \times 100$$

Note :

$r(\%)$ exprime le rendement ;

Quantité de l'extrait d'amidon de l'ignames' exprime en gramme ;

Quantité de la masse fraise au départ de l'ignames' exprime en gramme ;

100 : exprime le pourcentage.

II.3.4. PREPARATION DU BROYAT DES RACINES DE *Rhynchosia insignis* (MUNKOYO)

(A) Principe

Cette méthode consiste à broyer l'échantillon et à tamiser pour les filtres séchés de Munkoyo.

(B) Mode opératoire

Les racines de Munkoyo doivent être coupées en très petits morceaux à l'aide un couteau puis les morceaux obtenus sont ensuite broyés dans une machines ou dans le mortier et enfin tamiser pour récupérer la poussière ou des petits morceaux fins de Munkoyo.

II.3.5. PREPARATION D'UNE BOISSON ALCOOLISEE A BASE DES TUBERCULES DE *Dioscorea alata* (IGNAME) AVEC COMME SOURCE D'AMYLASES LE *Rhynchosia insignis* (MUNKOYO)

Les étapes de production du *Munkoyo* sont : L'empâtage, la liquéfaction-saccharification et la fermentation.

(A) Empâtage :

Nous avons utilisé la plaque chauffante comme source d'énergie entraîne une variation de la durée d'empâtage.

Cette étape consiste à gélatiniser l'amidon de farine de maïs, de l'igname dans l'eau. Selon Steinkraus (1983), cette durée varie de 1 à 5 h lors de la préparation traditionnelle des boissons fermentées à base de céréales et de tubercules. Les propriétés de l'amidon sont modifiées par la formation d'un complexe amylose-lipide lors du traitement thermique (Malumba et *al.*, 2011). La formation de ce complexe augmente la température de gélatinisation et réduit la solubilité et la digestibilité (15-33 %) de l'amidon (Guraya et *al.*, 1997).

(B) Liquéfaction-saccharification :

L'étape consiste à introduire les fibres de racines de Munkoyo dans l'empois d'amidon (le porridge) légèrement refroidi et induit une liquéfaction presque immédiate.

Selon Bernier et *al.*, (1959), 3,5 kg de fibres de racines sont mis en œuvre pour produire 125 à 130 l de boisson.

En fonction de cette valeur ci-haut nous avons élaboré un rapport de la quantité de Munkoyo à introduire est de 140 g dans 5 l de moût.

- Premièrement introduction de 70 g de fibres de racines de Munkoyo pour la liquéfaction et saccharification à 55° c pour l'hydrolyse des α -amylases ;
- Deuxièmement introduire 70 g de fibres de racines de Munkoyo pour la liquéfaction et pour la saccharification à 73° c pour l'hydrolyse des β -amylases.

Selon Bernier et *al.*, (1959), les racines de Munkoyo liquéfient en 30 s 100 l de pâte amyliacée épaisse. La saccharification est obtenue après 6 à 7 h, en laissant les fibres dans le porridge liquéfié.

La filtration grossière à l'aide d'un tamis en osier a pour but d'éliminer les fibres des racines et d'arrêter la saccharification. La suspension sucrée obtenue, appelée Munkoyo frais, peut être consommée généralement par qui que se soit.

En effet, l'étape permet la dégradation de l'amidon en sucres. Le rendement de dégradation dépend de la source d'amidon et de la température d'incubation. Selon Sarikaya et *al.*, (2000), l'amidon de riz et de l'igname sont les meilleurs substrats pour l'hydrolyse enzymatique par les α - et β -amylases.

Le rendement de dégradation dépend de la source d'amidon et de la température d'incubation.

❖ Recherche de l'amidon :

Verser une goutte d'alcool iodé sur le gel d'amidon sur la paille, observer le résultat.

(C) Fermentation

(1) Ensemencement du moût

(a) Principe

Cette méthode consiste à répandre la semence sur ou dans le moût.

(b) Mode opératoire

- Prélever 4 g/l de levure avec 1 g du sucre blanc, incorporer le mélange dans 200 cc de moût ;
- Boucher avec une compresse stérile ;
- Secouer légèrement ;
- Après 15 minutes, le mélange devient trouble ;
- Ensemencer.

(2) Début de fermentation

Le porridge sucré est réparti dans plusieursalebasses et conservé à température ambiante durant 1 à 4 jours (Bernier et al. 1959 ; Bouillenne-Walrand et al., 1959). La fermentation observée lors de la conservation est responsable des principales caractéristiques du Munkoyo. La boisson devient aigre (acide), ressemblant au yaourt, et alcoolisée.

Les ferments de Munkoyo proviendraient soit des racines, des récipients et/ou des mains des productrices. Les principales bactéries lactiques responsables de l'acidification des boissons fermentées à base de céréales sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* (Oyewole, 1997).

Ce procédé est plus simple comparativement à d'autres boissons fermentées à base de céréales. Généralement, la production de boissons à base de céréales (*Kaffir*, *Mahewu*, *Bouza*, *Pito*) nécessite une

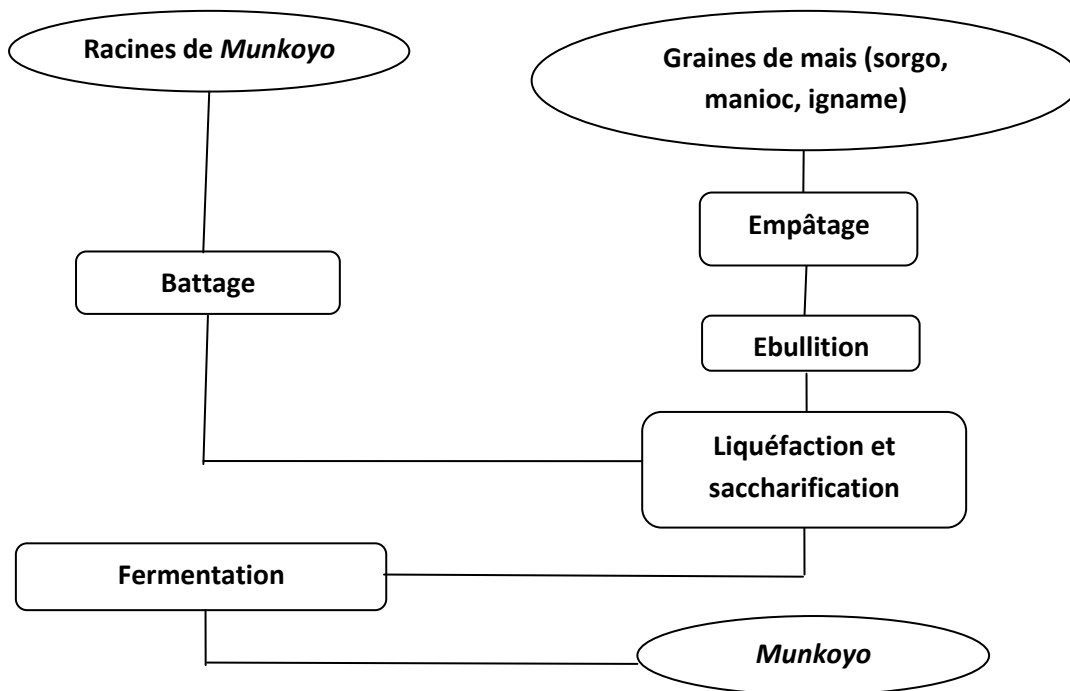


Figure 1-2. schéma de fabrication de la boisson Munkoyo –Diagram of manufacturing of Munkoyo beverage (Pauwels et al., 1992).

II.3.6. MESURE DE LA DENSITE DU MOUT

(A) Principe

Il consiste à déterminer la teneur en alcool de la bière, en utilisant l'hydromètre. L'hydromètre est notamment utilisé pour mesurer la densité du moût de raisin ou d'orge, du sirop de sucre, ou pour évaluer le taux d'alcool probable du vin.

L'hydromètre est un tube scellé fait de verre soufflé à la main. Il renferme de la grenaille de plomb dans le fond et des échelles calibrées dans le haut du tube: une pour la gravité spécifique, une pour l'alcool potentiel et l'autre pour la teneur

en sucre. Il s'utilise conjointement à un bocal cylindrique long et étroit qui contient le liquide devant être mesuré.

Lorsque le bocal cylindrique contient le jus que l'on veut mesurer et que l'hydromètre y est inséré, celui-ci s'enfonce dans le liquide jusqu'au niveau correspondant à sa densité ; celle-ci est reliée à la quantité de solides solubles (en grande partie les sucres) présents dans le moût.

(B) Mode opératoire

- Remplissez le bocal cylindrique aux trois quarts avec du jus de pomme ou le moût, puis introduisez délicatement l'hydromètre ;
- Faites-le tourner rapidement dans le liquide (comme une toupie) pour déloger les bulles d'air adhérant aux parois du bocal, car celles-ci pourraient fausser les résultats ;
- Lisez les résultats à la hauteur des yeux. Relevez la mesure de la gravité spécifique à l'endroit exact où le liquide entre en contact avec la section calibrée ;
- Plusieurs hydromètres utilisés dans la fabrication du vin donnent une lecture exacte lorsque la température du liquide est égale à 16 degrés Celsius (60° F).

Il est donc important de connaître la température du liquide et d'apporter une correction à la lecture lorsque la température est différente, (source : www.univers-biere.net/mesur_dens.php).

II.3.7. MESURE DU pH DE LA BOISSON FERMENTEE

Le papier pH est une méthode fréquemment employée en raison de sa simplicité d'utilisation et de son coût abordable. Il se présente sous la forme de bandelettes de papier imprégnées de réactifs qui changent de couleur selon le pH de la solution. Ses inconvénients majeurs sont son inexactitude de mesure due à l'étendue de la zone de virage, et la subjectivité d'appréciation des couleurs par l'utilisateur. De plus, les couleurs diffèrent suivant la marque du papier et ses constituants.



Figure 1-3. *pH-mètre*

(A) Principe

La mesure du pH de la bière s'effectue à l'aide du papier pH. Le papier pH est une méthode fréquemment employée en raison de sa simplicité d'utilisation et de son coût abordable.

(B) Mode opératoire

- On pose une goutte de la bière sur du papier pH ;
- Observations : En contact avec la bière, le papier devient rose-jaune ;
- Interprétation : La coloration rose-jaune du papier pH en contact avec la goutte de la bière indique que la solution de la bière a un pH acide d'environ 6.

La plupart du temps, il donne deux couleurs distinctes et, dans une zone de une à deux unités de pH nommée zone de virage, des teintes correspondant au mélange de ces deux couleurs. Les indicateurs colorés les plus souvent utilisés sont : l'hélianthine appelée aussi méthylorange, le rouge de méthyle, le bleu de bromothymol et la phénolphthaléine.

II.3.8. MESURE TAUX D'ALCOOL DE LA BOISSON FERMENTEE

L'hydromètre est notamment utilisé pour mesurer la densité du moût de raisin ou d'orge, de l'igname, du sirop de sucre, ou pour évaluer le taux d'alcool probable du vin, (ROBITAILLE Vincent et Denis TREMBLAY, 1997).

Selon des sources indirectes, il aurait été inventé par Hypatie. En 1768, Antoine Baumé invente l'hydromètre à échelle Baumé. L'hydromètre est construit sur le même principe que le Thermomètre de Galilée sur la dilatation des fluides, (Hypatia of Alexandria).

L'hydromètre ou densimètre (noms alternatifs : mustimètre, pèse moût, pèse-sirop ou encore aréomètre) est un instrument en verre ou en métal utilisé pour mesurer la masse volumique d'un liquide en utilisant le principe d'Archimède, (ROBITAILLE Vincent et Denis TREMBLAY, 1997).

L'hydromètre est un tube scellé fait de verre soufflé à la main. Il renferme de la grenaille de plomb dans le fond et des échelles calibrées dans le haut du tube: une pour la gravité spécifique, une pour l'alcool potentiel et l'autre pour la teneur en sucre.

L'hydromètre est également utilisé dans un essai laboratoire appelé sédimentométrie, servant à calculer la répartition des particules microscopiques dans un échantillon de sol, (ROBITAILLE Vincent et Denis TREMBLAY, 1997).

(A) Principe

Un hydromètre consiste en un cylindre creux, lesté et gradué, qui s'enfonce plus ou moins dans le liquide à mesurer selon sa densité.

On lit directement la densité du liquide dans lequel il est plongé sur la graduation présente à la surface libre.

(B) Mode opératoire

- Remplissez le bocal cylindrique aux trois quarts ou un récipient étalon de 100mL avec de la boisson fermentée, puis introduisez délicatement l'hydromètre ;
- Faites-le tourner rapidement dans le liquide (comme une toupie) pour déloger les bulles d'air adhérant aux parois du bocal, car celles-ci pourraient fausser les résultats ;
- Lisez les résultats à la hauteur des yeux. Relevez la mesure de la gravité spécifique à l'endroit exact où le liquide entre en contact avec la section calibrée ;
- Plusieurs hydromètres utilisés dans la fabrication maison du vinaigre donnent une lecture exacte lorsque la température du liquide est égale à 16 degrés Celcius (60° F). Il est donc important de connaître la température du liquide et d'apporter une correction à la lecture lorsque la température est différente.

Utilisez ce tableau pour faire les ajustements nécessaires. Correction à la lecture de la gravité spécifique

Tableau VI. *Correction à la lecture de la gravité spécifique*

Température, en degrés F	Température, en degrés C	Facteur de correction
60	16	Aucun
70	21	ajouter 0,001
77	25	ajouter 0,002
84	29	ajouter 0,003
95	35	ajouter 0,005
105	41	ajouter 0,007

Source : (ROBITAILLE Vincent et Denis TREMBLAY, 1997)

Par exemple, si durant une chaude journée d'été, vous obtenez une lecture de 1.036 pour votre jus de pomme sur l'échelle de gravité et que la température du jus soit 35 degrés Celcius (95° F), il faudra corriger la lecture comme suit :

$$1.036 + 0.005 = 1.041$$

CHAP III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. RESULTATS

III.1.1. Extraction de l'amidon

Nous avons obtenu un amidon de très bonne qualité, de couleur brune. Pour 3500 g de masse fraîche d'igname, nous avons obtenu 35 g d'amidon, soit un rendement de 1 %, calculé comme suit :

$$\text{Rendement (\%)} = (35 \text{ g} \div 3500 \text{ g}) \times 100 = 1 \%$$

La figure 1 montre la quantité d'amidon extrait.



Figure 1. *Amidon brut extrait des tubercules d'igname*

Le rendement obtenu est de 1 pour cent par rapport à la quantité des tubercules d'igname du départ soit 3500 grammes pour une quantité d'extrait d'amidon de 35 grammes. L'amidon est de couleur jaune.

*III.1.2. Préparation du broyat des racines de *Rhynchosia insignis* (Munkoyo)*

Nous avons obtenu les fragments des racines de *Rhynchosia insignis* ainsi qu'en poudre c'est-à-dire en poussière.

La figure 2 montre les fragments des racines de *Rhynchosia insignis* (*Munkoyo*).



Figure 2. *Broyat des racines de Rhynchosia insignis (Munkoyo)*

Les fragments des racines de *Rhynchosia insignis* sont les produits du battage et serviront dans la liquéfaction et saccharification du moût.

III.1.3. Moût d'igname

La figure 3 montre le moût d'igname.



Figure 3. *Moût d'igname*

Cette figure montre que la couleur et la quantité du moût d'igname obtenus avant l'étape de la liquéfaction et saccharification du moût.

III.1.4. Recherche d'amidon

(A) Test à l'alcool iodé de l'amidon avant la liquéfaction-saccharification

La figure 4 montre le test à l'alcool iodé pour la recherche de la présence de l'amidon avant la liquéfaction-saccharification du moût.



Figure 4. *Moût d'igname avant liquéfaction-saccharification*

Il ressort de cette figure ou cette image, un test positif qu'il y a bel et bien la présence de l'amidon dans le moût avant la liquéfaction-saccharification du moût. L'alcool iodé, habituellement de couleur marronne vire en couleur bleue foncée, c'est-à-dire, il y a bel et bien la présence de l'amidon.

(B) Test à l'alcool iodé de l'amidon après la liquéfaction-saccharification

La figure 5 montre le test à l'alcool iodé pour la recherche de la présence de l'amidon après la liquéfaction-saccharification du moût.



Figure 5. *Moût d'igname après liquéfaction-saccharification*

Quant à la figure 5, le test est négatif. L'alcool iodé, habituellement de couleur marronne reste intact, c'est-à-dire, il y a absence de l'amidon après liquéfaction-saccharification du moût. Donc le moût est prêt à la fermentation.

III.1.5. Boisson obtenue après fermentation

La figure 6 montre la boisson obtenue après fermentation.



Figure 6. *Boisson fermentée*

Nous avons obtenu une lecture de 4 pour cent de notre vin à basse de tubercules de *Dioscorea alata* sur l'échelle de gravité et que la température du moût soit 35 degrés Celsius (95° F) tout en ajoutant le facteur de correction 0.005. La correction à la lecture gravimétrique spécifique est comme suit :

$$4 + 0.005 = \mathbf{4.005\%}$$

III.1.6. Matière fraîche de *Dioscorea alata*

Quant à la figure 7 montre la variation de la matière fraîche.

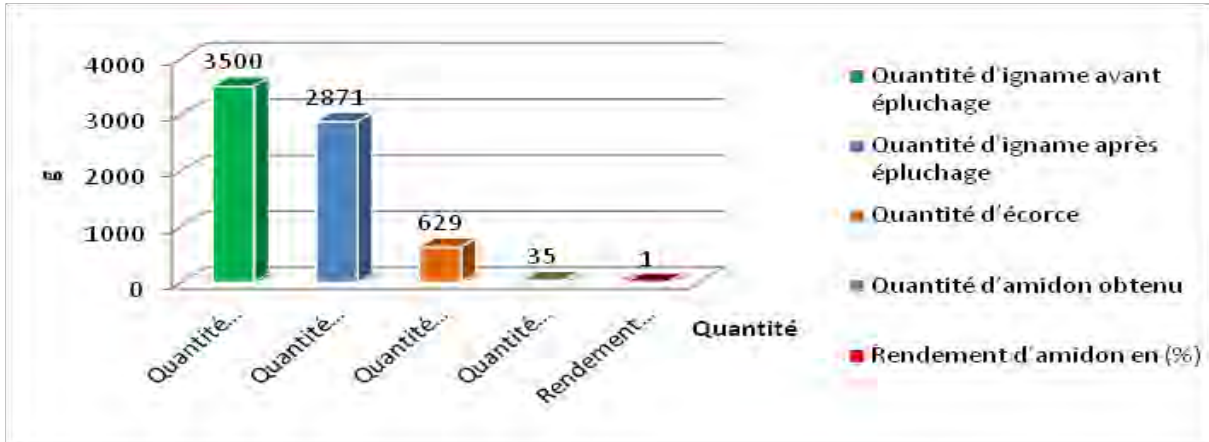


Figure 7. Quantité de la matière fraîche de *Dioscorea alata*

Quant à la figure 7 montre qu'une variation régressive de la matière fraîche de *Dioscorea alata*. Le rendement est de 1 pour cent de la quantité de la matière fraîche du départ avant épluchage. Il revient à dire que le tubercule de *Dioscorea alata* a une quantité très faible d'amidon à cause de la grande quantité de la muqueuse qu'il contient.

Tableau VII. Résultat de différents tests effectués Avant et après fermentation

Tests	Avant Liquéfaction-Saccharification du moût	Après Liquéfaction-Saccharification du moût
Test de Lugol (Alcool Iodé)	+ (Positif) (Couleur Blue Foncée)	- (Négatif) (Couleur Maronne)
Boisson fermentée		
pH	6 (Acide), (Couleur Rose-jaune)	
Taux d'alcool en (%) :	$4 + 0.005 = 4.005$	
T° 35 °C = 95 °F		

Il ressort de ce tableau que le pH obtenu est acide et le taux d'alcool est de 4.005 %. La boisson est de couleur rose-jaune. Le test de Lugol après la Liquéfaction-Saccharification du moût est négatif. Le goût de la boisson est aigre.

III.2. DISCUSSION

Le tubercule de *Dioscorea alata* a une quantité très faible d'amidon à cause de la grande quantité de la muqueuse qu'il contient. L'amidon obtenu est jaunâtre. Le test de Lugol après la Liquéfaction-Saccharification du moût est négatif.

D'après les résultats obtenus de la boisson fermentée à base des tubercules de *Dioscorea alata*, la teneur en alcool de Munkoyo est de 4.005 %, le pH de la boisson est acide environ 6 et le goût de la boisson est aigre (acide).

La teneur en alcool dans le Munkoyo est également similaire aux boissons fermentées traditionnelles. Notre résultat corrobore au résultat de Jespersen (2003), la teneur varie entre 2 à 3 % dans les boissons fermentées à base de céréales.

Ils diffèrent à ceux de (Steinkraus, 1983 ; Steinkraus, 2004), pour le mahewu et le kaffi, boissons à base de maïs, le pH est de 3,2 à 3,9 et son acidité titrable correspondante est de 0,4-0,5 %.

Le pH est acide soit environ 6. Il est comparativement à d'autres boissons fermentées à base des céréales. Selon (Poot, 1954), le pH de la boisson à base des céréales varie entre 3,1 et 3,7 (Tableau V).

L'acidité est similaire aux autres boissons fermentées à base de tubercule.

La fermentation observée lors de la conservation est responsable des principales caractéristiques du Munkoyo. La coloration jaunâtre de la boisson est attribuée aux pigments des racines à bois et à fibres jaunâtres. L'emploi des racines de Munkoyo permet d'éviter l'étape de maltage lors de la fabrication du Munkoyo. Comparativement à d'autres boissons fermentées à base des céréales, les racines de Munkoyo contribuent aussi à la coloration et à la saveur caractéristique de la boisson (Lovelace, 1977).

Le *Saccharomyces cerevisiae* est responsable de la production d'alcool. Cette levure est une espèce prédominante dans plusieurs boissons fermentées à base de céréales.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Notre étude a porté sur l'aperçu de l'action des amylases de *Rhynchosia insignis* (Munkoyo) sur l'hydrolyse de l'amidon et la préparation d'une boisson alcoolisée à base des tubercules de *Dioscorea alata*. Pour ce faire, notre étude et expérience se pratiquaient dans le Laboratoire de Microbiologie et de Physiologie Végétale du Département de Biologie, dans la Faculté des Sciences au sein de l'Université de Kinshasa en appliquant la méthodologie.

Le tubercule de *Dioscorea alata* a une quantité très faible d'amidon à cause de la grande quantité de la muqueuse qu'il contient. L'amidon obtenu est jaunâtre. Le test de Lugol après la Liquéfaction-Saccharification du moût est négatif.

D'après les résultats obtenus de la boisson fermentée à base des tubercules de *Dioscorea alata*, la teneur en alcool de Munkoyo est de 4.005 %, le pH de la boisson est acide environ 6 et le goût de la boisson est aigre (acide).

La coloration jaunâtre de la boisson est attribuée aux pigments des racines à bois et à fibres jaunâtres. L'emploi des racines de Munkoyo permet d'éviter l'étape de maltage lors de la fabrication du Munkoyo. Le *Saccharomyces cerevisiae* est responsable de la production d'alcool. Cette levure est une espèce prédominante dans plusieurs boissons fermentées à base de céréales.

Les racines de Munkoyo sont principalement utilisées comme sources d'enzymes amylolytiques dans le procédé de fabrication du Munkoyo. L'emploi des racines de Munkoyo permet d'éviter l'étape de maltage lors de la fabrication du Munkoyo.

Les racines de Munkoyo proviennent de plantes appartenant à la famille de Fabaceae. Les plantes de Munkoyo se regroupent en trois genres : *Eminia*, *Rhynchosia* et *Vigna*. Comme la présence des activités enzymatiques ne nécessite pas la germination préalable (maltage), l'emploi de ces enzymes exogènes permet de simplifier le procédé de fabrication de cette boisson en trois étapes (empâtage, liquéfaction-saccharification et fermentation). Ainsi, la promotion de ces racines comme sources d'amylases permettrait de supprimer l'étape de maltage lors de la fabrication de plusieurs boissons fermentées traditionnelles. Pour optimiser et industrialiser le procédé de fabrication du Munkoyo.

Les conditions de fermentation du Munkoyo sont incontrôlées. La fermentation se déroule à température ambiante. La fermentation à des températures non contrôlées entraîne un allongement du temps d'acidification, une acidification trop irrégulière et une augmentation de la concentration de certains acides organiques responsables de la dégradation de la qualité organoleptique. Les consommateurs considèrent le Munkoyo comme une boisson bénéfique à la digestion. Le Munkoyo devrait être considéré comme une boisson énergétique.

Actuellement, aucune étude ne traite de cette propriété. Cependant, il est reconnu que la consommation des aliments fermentés par des micro-organismes producteurs d'activité α -galactosidase permet de réduire la concentration des oligosaccharides non digestibles.

A ce jour, aucun problème toxicologique n'a été relevé dans la littérature. Généralement, les boissons traditionnelles fermentées à base de céréales sont contaminées par les grains de céréales mal conservés, tandis que les tubercules sont aussi contaminés.

De ce qui précède, nous formulons ci-après des recommandations en vue du projet sur la fabrication d'une boisson fermentée de Munkoyo.

- ✓ Identifier l'espèce dont vous avez besoin d'utilisation ;
- ✓ Utiliser de grains sains ou des tubercules sains ;
- ✓ Conserver bien le moût lors de la fermentation ;
- ✓ Respecter la température de la fermentation ;
- ✓ Sensibiliser la population sur les vertus de la flore ;
- ✓ Conserver les espèces floristiques ainsi que leurs écosystèmes ;
- ✓ Promouvoir la production de Munkoyo.

BIBLIOGRAPHIE

Amidon, 2009.

Anonyme article Codex Alimentarius (1989) : CAC/GL 36-1989, p.1-35. Consulté le 05 Avril 2015 à 12h.

Anonyme article PORTAIL DE LA BIOCHIMIE (2009), p.54.

Anonyme, Fiche internationale de sécurité chimique, 2009 : consulté le 05 Avril 2015 à 11h 14'

ARAGHINIKNAM M, CHUNG S, 1996 : Antioxydant activity of Dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans. Life sci. 59(11): PL 1 p.47-57.

Bernier G. & Lamberchts A., 1959 : Étude sur les boissons fermentées indigènes du Katanga. Bruxelles : Académie Royale des Sciences coloniales. Classe des sciences naturelles et médicales, Mémoire in 8°.

Blandino A. et al., 2003 : Cereal-based fermented foods and beverages. Food Res. Int., 36, p.527-543.

Bouillenne-Walrand M. & Bouillenne R., 1959 : Sur l'isolement et les propriétés d'un nouveau complexe amylolytique puissant, l'Éminiase, extrait de *Eminia sp.* Bull. Séances Acad. R. Sci. Outre-Mer, 5, p.1335-1355.

Brena B.M., Pazos C., Franco-Fraguas L. & BatistaViera F., 1996 : Chromatographic methods for amylases. J. Chromatogr. B, 684, p.217-237.

Codex Alimentarius, 1989: Noms de catégorie et système international de numérotation des additifs alimentaires [archive]. CAC/GL 36-1989, p. 1-35.

Delaude C., Mulkay P., Ngoy K. & Pauwels L., 1993 : Munkoyo. Les boissons fermentées africaines. Liège, Belgique : Éd. Antoine Degive.

DOMINIQUE Rojat et Jean-Marc PEROL, 2005 : Programme des Sciences de la Vie et de la Terre, p.149.

Ergo A.B., Breyene H. & Delaude C., 1994 : Les possibilités théoriques d'introduire *Eminia holubii* en Afrique hors de l'aire de distribution de l'espèce. Bull. Soc. R. Sci. Liège, 63(6), p.439-454.

Fiche internationale de sécurité chimique [archive], consultée le 10 juillet 2009

Flore du Congo Belge et du Ruanda-Urundi, 1954 : SPERMATOPHYTES, volume VI p.183-184, p.193-194 et p.221.

Gadaga T.H., Mutukumira A.N., Narvhus J.A. & Feresu S.B., 1999 : A review of traditional fermented foods and beverages of Zimbabwe. *Int. J. Food Microbiol.*, 53(1), p.1-11.

Gana J.A., Kalengamaliro N.E., Cunningham S.M. & Volenec J.J., 1998 : Expression of β -amylase from Alfalfa taproots. *Plant Physiol.*, 118, p.1495-1505.

Gupta M., Abu-Ghannam N. & Gallagher E., 2010 : Barley for brewing: characteristic changes during malting, brewing and applications of its by-products. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 9, p.318-328.

Guraya H.S., Kadan R.S. & Champagne E.T., 1997 : Effect of rice starch-lipid complexes on in vitro digestibility, complexing index, and viscosity. *Cereal Chem.*, 74(5), p.561-565.

Hesseltine C.W., 1979 : Some important fermented foods of Mid-Asia, the Middle East, and Africa. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 56(3), p.367-374.

La MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE, p.45.

Lovelace C.E.A., 1977 : Estimation of nutrient content of two fermented beverages from Zambia opaque maize beer and munkoyo. Symposium on indigineous fermented foods, Bangkok, Thailand. In: Steinkraus K.H., ed., 1983: Handbook of indigenous fermented foods. New York, USA: Marcel Dekker, p.371-373.

Malumba P.K. et al., 2011 : Structure de l'amidon de maïs et principaux phénomènes impliqués dans sa modification thermique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 15(2), p.315-326.

MAR S.S. et al., 2003 : Purification, characterization, and sequence analysis of two α -amylase isoforms from Azuki bean, *Vigna angularis*, showing different affinity towards β -cyclodextrin Sepharose. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67(5), p.1080-1093.

MULKAY P. & DELAUDE C., 1986 : Le pouvoir amylolytique de quelques Fabaceae africaines. *Bull. Soc. R. Sci. Liège*, 55(5-6), p.627-631.

Mulkay P. & Delaude C., 1986 : Le pouvoir amylolytique de quelques Fabaceae africaines. Bull. Soc. R. Sci. Liège, 55(5-6), p.627-631.

Mulkay P., Delaude C., Huls R. & Breyne H., 1985 : Le pouvoir amylolytique de *Rhynchosia insignis* (Fabaceae). Bull. Soc. R. Sci. Liège, 54(3), p187-193.

MURALIKRISHNA G. & NIRMALA M., 2005 : Cereal α -amylases—an overview. Carbohydr. Polym., 60(2), p.163-173.

Muralikrishna G. & Nirmala M., 2005 : Cereal α -amylases— an overview. Carbohydr. Polym., 60(2), p163-173.

MUYANJA C.M.B.K., NARVHUS J.A., TREIMO J. & LANGSRUD T., 2003 : Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria from bushera: a Ugandan traditional fermented beverage. Int. J. Food Microbiol., 80, p.201-210.

NANCY FLOOD, WILLIAM G.FRIED, DAVID LYNN, EDWARD L. MEDZON, JOHN OGLETREE, MARION POOLE, JAMES RISING et RON WEEKS, COMPRENDRE LA BIOLOGIE p.43 et p.309.

NDAGANO D. et al., 2011 : Antifungal activity of 2 lactic bacteria of the Weissella genus isolated from food. J. Food Sci., 76(6), p.305-311.

Ndagano D. et al., 2011 : Antifungal activity of 2 lactic bacteria of the Weissella genus isolated from food. J. Food Sci., 76(6), p.305-311.

Nelson-WHITE T, ESKELSON C, WATSON RR., 2013 : Antioxydant activity of Dioscorea and dehydroepiandrosterone in older humans, Arizona Prevention Center, University of Arizona, school of Medicine, Tucson 85724, USA. p.10.

NOUT M.J.R. & MOTARJEMI Y., 1997 : Assessment of fermentation as household technology for improving food safety: a joint FAO/WHO workshop. Food Control, 8, p.221-226.

Oyewole O.B., 1997 : Lactic fermented foods in Africa and their benefits. Food Control, 8(5/6), p.289-297.

OYEWOLE O.B., 1997 : Lactic fermented foods in Africa and their benefits. Food Control, 8(5/6), p.289-297.

Pauwels L., Mulkay P., Ngoy K. & Delaude C., 1992 : *Eminia*, *Rhynchosia* et *Vigna* (Fabacées) à complexes amylolytiques employés dans la région zambézienne pour la fabrication de la bière « Munkoyo ». Belg. J. Bot., 125(1), p.41-60.

Poot A., 1954 : Le « Munkoyo », boisson des indigènes Bapende (Katanga). Bull. Inst. R. Colonial Belg., 25(1), p.386-389.

RACCUIA S.A. & MELILLI M.G., 2010 : Seasonal dynamics of biomass, inulin, and water-soluble sugars in roots of *Cynara cardunculus* L. Field Crops Res., 116, p.147-153.

RAMOS C.L. et al., 2010 : Determination of dynamic characteristics of microboiata in a fermented beverage produced by Brazilian Amerindians using culture-dependent and culture-independent methods. Int. J. Food Microbiol., 140, p.225-231.

ROBITAILLE Vincent et Denis TREMBLAY, 1997 : Mécanique des sols : Théorie et pratique, p.45.

Sarikaya E., Higasa T., Adachi M. & Mikami B., 2000 : Comparison of degradation abilities of α - and β -amylases on raw starch granules. Process Biochem., 35, p.711-715.

Shewry P.R., 2007 : Improving the protein content and composition of cereal grain. J. Cereal Sci., 46(3), p.239-250.

Simwamba C.G. & Elahi M., 1986 : Studies on the nutrient composition of *Rhynchosia venulosa* (munkoyo roots) and physicochemical changes in munkoyo roots and maize porridge mixture during preparation of munkoyo beverage. J. Agric. Food Chem., 34, p.573-575.

Steinkraus K.H., 1983: Handbook of indigenous fermented foods. New York, USA: Marcel Dekker.

Steinkraus K.H., 2004 : Industrialization of indigenous fermented foods. 2nd ed. New York, USA: CRC Press.

Subbaro K.V., Datta R. & Sharma R., 1998 : Amylases synthesis in scutellum and aleurone layer of maize seeds. Phytochemistry, 49(3), p.657-666.

Tiendrebreogo F., 1981 : Étude des systèmes amylolytiques d'*Eminia polyademia* et des propriétés enzymatiques des amylases immobilisées de malt et de munkoyo. Thèse de doctorat : Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy (France).

Unions des Syndicats des Industries des Produits Amylacés et de leurs dérivés USIPA, (2013).

SITES WEB:

1. [Http : //www.notreplanete.info](http://www.notreplanete.info) consulté le 4 mars 2015 à 17h00' ;
2. [Http : //www.chem.qmul.ac.Uk/inbmb/enzyme/enzyme/EC3/0201a.html](http://www.chem.qmul.ac.Uk/inbmb/enzyme/enzyme/EC3/0201a.html) #001;
3. [Http : //www.expasy.org/cgi-bin/nicenzyme pl.3.2.1.1](http://www.expasy.org/cgi-bin/nicenzyme_pl.3.2.1.1). consulté le 05 Avril 2015 à 12h20' ;
4. [Http : //www.lbl-transatlantic.com](http://www.lbl-transatlantic.com). consulté le 05 Avril 2015 à 12h20' ;
5. [Http : //www.axcan.com](http://www.axcan.com). consulté le 05 Avril 2015 à 12h20' ;
6. [Http : //www.univers-biere.net/mesur_dens.php](http://www.univers-biere.net/mesur_dens.php);
7. [Http : //www.chemIDplus.com](http://www.chemIDplus.com), consulté le 05 Avril 2015 à 12h20' ;
8. [Http : //www.azaquar.com](http://www.azaquar.com), consulté le 06 Avril 2015 à 16h00'.