

Optimisation de la production d'éthanol par les techniques d'hydrolyse de l'amidon de manioc et la fermentation de la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*)

NWAGA Dieudonné^{1*}, OMOLOKO Cécile², KOUAM Emile³ et WU Jihuang⁴

¹Centre de Biotechnologie, Laboratoire de Microbiologie des Sols, B.P.812 Université de Yaoundé I, Cameroun. E-mail: drwaga@yahoo.fr

²Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Département de Médecine interne, Université de Yaoundé I

³Laboratoire de Microbiologie, Département de Biologie et Physiologie Végétales. Faculté des Sciences B.P.812 Université de Yaoundé I

⁴ Université Agricole de Zhejiang, Chine.

RESUME

Nous avons évalué les paramètres optimum pour la production d'alcool à partir de l'efficacité d'hydrolyse de l'amidon: chimique (HCl), enzymatique (amylase de *Aspergillus niger* ou de malt) et mixte (chimique et enzymatique). La fermentation alcoolique par la levure de bière est suivie, à travers l'influence du pH, de la température, du substrat et de la durée. La méthode la plus efficace est l'hydrolyse mixte avec 82% à 86% de rendement et la moins efficace est l'hydrolyse chimique avec 31% de rendement. La teneur en alcool augmente avec la concentration en substrat jusqu'à un optimum à 200 g/l. Le rendement le plus élevé pour la production d'alcool est 47,9%. Les conditions les plus favorables sont: 50 g/l de sucre, pH de 6, 30°C et 36 h de fermentation pour une meilleure rentabilité. On peut optimiser ces résultats en utilisant des technologies plus efficaces pour l'hydrolyse de l'amidon. Il vaut mieux produire l'éthanol à partir d'une fermentation contrôlée pour éviter les intoxications provoquées par le méthanol.

Mots clés: fermentation alcoolique, *Saccharomyces cerevisiae*, amidon de manioc, *Aspergillus niger*, malt, amylases.

ABSTRACT

Optimum parameters suitable for alcohol production were set up. We tested the efficiency of starch hydrolysis using three methods: hydrochloric acid; enzymatic using microbial *Aspergillus niger* amylases or malt amylases, mixed hydrolysis combining chemical and enzymatic methods. Alcoholic fermentation was assessed using yeast and wort hydrolysis of starch. The pH, temperature, substrate content and duration of the fermentation were studied. The most efficient method is the mixed chemical and enzymatic hydrolysis because it yielded 82 to 86% and the least efficient is chemical hydrolysis which yielded 31% compared to glucose fermentation. Alcohol concentration increased with substrate concentration to an optimum at 200 g/l. The highest alcohol yield was 47.9%. The optimum parameters for alcohol production using yeast were: 150 g/l, pH of 6, 30°C and duration of 36 h for the best profitability. These results could be improved by using more efficient technology for starch hydrolysis and alcohol production through high ethanol and substrate tolerance. The production of ethanol using established technology is recommended in order to avoid methanol intoxication from uncontrolled fermentation.

Key words: alcoholic fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, cassava starch, *Aspergillus niger*, malt, amylases.

* Auteur pour correspondance

INTRODUCTION

Le manioc (*Manihot esculenta*, Crantz) est cultivé pour ses feuilles et ses tubercules riches en amidon (25 à 38%). Il sert à la préparation de tapioca, de farine, d'aliments pour le bétail, de biscuits, de pâtes alimentaires, de colles, de sirop de glucose mais aussi d'éthanol par fermentation alcoolique (Edwards, 1974; Anonyme, 1984; Westphal et al, 1985; Ngo Nsom J. et Abondo A, 1989; FAO, 1990; Smith, 1996). Le Cameroun produisait 1,08 10⁶ tonnes de manioc en 1990 alors qu'au Nigeria et en RDC (respectivement 1^{er} et 2^e producteur africain) la production s'élevait à 19 et 17,6 10⁶ de tonnes (Smith, 1996). Les rendements du manioc varient de 3 à 15 t/ha, mais peuvent atteindre 60 t/ha sur des sols fertiles (Anonyme, 1984). La fermentation alcoolique est répandue chez *Saccharomyces cerevisiae*, la levure de bière mais aussi chez les bactéries telles que: *Zymomonas mobilis*, (Garro et al, 1990) et *Clostridium* (Ueki et al, 1991). Mais la plupart de ces microbes ne peuvent pas fermenter l'amidon, car ne possédant pas d'amylases extracellulaires (Demeyer et al, 1981). La préparation du moût de fermentation nécessite donc une hydrolyse préalable de l'amidon. L'amidon est un polymère formé d'un seul monomère de glucose et sa formule brute est (C₆H₁₀O₅)_n et sa structure est faite d'amylose et d'amylopectine (Alais et, Linden, 1994). L'hydrolyse de l'amidon peut être réalisée soit avec un acide fort, ou avec les amylases (Alais et, Linden, 1994; Raimbault, 1981; Ofuya et al, 1990). L'hydrolyse chimique est souvent utilisée à l'échelle industrielle; elle est rapide, complète et fournit du glucose; mais elle nécessite la présence d'acide, la chaleur et entraîne une érosion du matériel (Demeyer et al, 1981; Alais et, Linden, 1994). L'hydrolyse enzymatique est utilisée depuis longtemps en brasserie et en boulangerie avec les amylases de malt de céréales (Demeyer et al, 1981; Bocquet, 1984). L'hydrolyse industrielle de l'amidon comprend: la liquéfaction, la dextrinisation et la saccharification (Segard, 1985). Il est possible d'utiliser les amylases d'*Aspergillus niger* ou *A. oryzae* (Scriban, 1984; Czarnecki and Grajeck, 1991). Selon Alais et Linden (1994) il existe les α -amylases (endoamylases libérant les dextrans, leur température optimale varie de 50 à 65°C), les β -amylases (exoamylases libérant le β -maltose et leur température optimale se situe autour de 50°C) et les glucoamylases produites par *A. niger* et *A. oryzae* qui libèrent le D-glucose, elles ont un pH optimum de 4,5 et une température optimale de 40-45°C (Hamer, 1995); Woods et Swinton, 1995). Le développement des α -amylases de *Bacillus subtilis* présentant une stabilité entre 95°C à 110°C a simplifié

les opérations de liquéfaction et dextrinisation de l'amidon en une seule étape (Segard, 1985). L'éthanol est produit dans les pays développés par voie chimique à partir de l'éthylène. Par contre, dans les pays en développement tel que le Brésil, la canne à sucre et le manioc sont utilisés pour la production de l'éthanol grâce à la fermentation microbienne (Demeyer et al., 1981). La production d'alcool par voie de fermentation a connu un essor considérable après la crise pétrolière des années 70, avec l'augmentation du prix du pétrole. Actuellement, le bio carburant est activement développé au Brésil à partir du saccharose de la canne à sucre et de l'amidon du manioc, mais d'autres pays tels que les États Unis utilisent plutôt le maïs. L'objectif de ce travail est de chercher les conditions optimales de production d'éthanol à partir de l'amidon de manioc.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La farine de manioc est obtenue à partir des tubercules frais achetés au marché Mokolo à Yaoundé et traitée selon Carrizales (1991). Les étapes permettant l'obtention de l'éthanol sont résumées sur la figure 1. L'empois d'amidon est obtenu par chauffage d'un mélange farine-eau à 60°C.

Préparation des inocula

Une souche d'*Aspergillus niger* provenant de l'Université de Zeijiang en Chine est repiquée sur milieu patate-dextrose-agar (PDA) en gélose inclinée de composition suivante en g/l: pomme de terre 200 g, saccharose 20 g, agar-agar 20 g et eau distillée q.s.p. 1 litre. Le pH est ajusté à 6 et la température d'incubation est de 30°C. La culture dure trois jours; elle est ensuite conservée à 4°C. Cette culture d'*A. niger* estensemencée sur du riz stérilisé (121°C, 15 min à l'autoclave) à l'aide d'une suspension de spores. L'ensemble est incubé pendant 7 j à 30°C. La culture est séchée à 40-45°C, broyé et conservée en conditions aseptiques. La poudre ainsi obtenue sert de source d'amylase (glucoamylase). Le malt d'orge fourni par les Brasseries du Cameroun est broyé finement et conservé à 40°C, puis utilisé comme source d'amylase. La souche de levure de bière *Saccharomyces cerevisiae* industrielle XII provenant de l'Université de Zeijiang est maintenue sur milieu PDA comme *A. niger*, puis cultivée pendant 24 h sur un milieu contenant (g/l) : du malt 100 g, du sulfate d'ammonium 1 g, 1 litre d'eau distillée q.s.p.; le pH est ajusté à 6 et le tout incubé à 30°C.

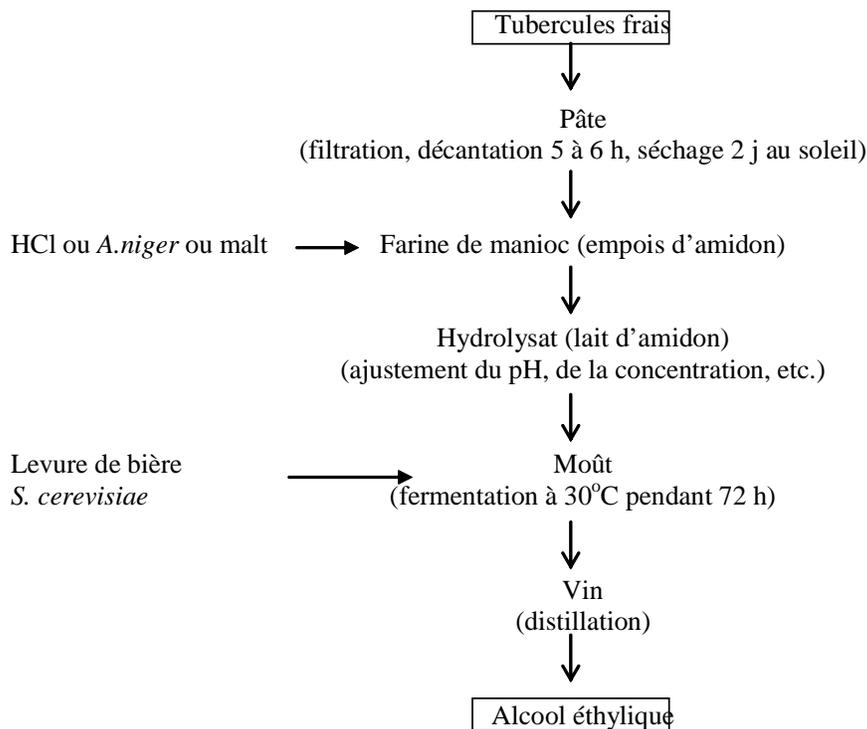


Fig. 1: Les étapes de la production de l'alcool à partir de l'amidon de manioc

La technologie d'hydrolyse de l'amidon et le dosage des sucres réducteurs

Trois méthodes d'hydrolyse ont été testées. Une hydrolyse chimique qui utilise 50 à 200 g/l d'empois d'amidon, le pH est ajusté à 1,5 à l'aide de l'acide chlorhydrique à 20%, mis ensuite à l'autoclave 120 mn à 121°C et refroidi. Le pH du mélange est de nouveau ajusté à 6 avec de la soude à 20%. Une hydrolyse enzymatique au cours de laquelle on mélange 50 à 250 g/l d'empois d'amidon à 10% avec soit une culture fongique d'*A. niger*, ou avec du malt d'orge broyé. Le pH du mélange est ajusté à 5 et porté au bain-marie à 40°C pendant 5 à 6 h; le pH est ajusté de nouveau à 6. Une hydrolyse mixte au cours de laquelle l'empois d'amidon est préalablement traité à l'acide chlorhydrique, puis par l'une ou l'autre des méthodes d'hydrolyse enzymatique (*A. niger* ou malt d'orge). Les sucres réducteurs sont dosés grâce à la liqueur de Fehling par titration de l'oxyde cuivreux, et le glucose est utilisé comme référence.

La fermentation du moût

Les fermenteurs sont constitués d'erlenmeyers de deux litres de capacité. Le moût de fermentation est préparé à partir de 250 ml d'hydrolysats d'amidon enrichi par 1 g/l de sulfate d'ammonium. Le pH du moût est ajusté à 6 à l'aide d'HCl ou de NaOH (20%). L'ensemencement est réalisé à l'aide d'une culture de 24 h à 30°C de *S. cerevisiae* à 20%. Le moût inoculé est incubé à 30°C, 72 h sous agitation à 125 t/mn à l'obscurité.

Influence du pH, de la température et de la durée de la fermentation

Afin d'évaluer l'impact d'un facteur, les autres sont maintenus constants alors que le facteur étudié varie. Pour l'étude de l'effet du pH, la température est fixée à 30°C et la durée de la fermentation à 72 h et le pH qui varie de 1 à 12 est ajusté à l'aide de HCl ou NaOH à 20%. Pour l'étude de l'effet de la température, le pH est ajusté à 6 et la durée de la fermentation à 72 h et la température varie de 0 à 60°C. La distillation est réalisée à partir de 250 ml de vin de fermentation introduit dans un chauffe-ballon. Après chauffage jusqu'à ébullition, 100 ml de distillat est recueilli au bout du dispositif réfrigéré à l'aide d'une éprouvette graduée. La teneur en eau de l'amidon est déterminée en évaluant la différence entre le poids frais et le poids sec après séchage à 105°C à l'étuve pendant au moins 12 heures. La méthode d'hydrolyse la plus efficace est déterminée par dosage de la teneur en glucose par la liqueur de Fehling dans l'hydrolysats de l'amidon de manioc. La teneur en alcool est évaluée par la méthode gravimétrique décrite par Wu (1983). Dans une fiole ou bouteille gravimétrique on réalise un étalonnage à 0,1 mg près du poids du mélange eau distillée-alcool de concentration variée; on évalue également la masse du distillat dans les mêmes conditions que celle de l'étalonnage. La teneur en masse sur le volume est égale au rapport de la masse du distillat sur le volume d'eau.

Tableau 1: Influence de la méthode d'hydrolyse de l'amidon de manioc sur la teneur en glucose et le rendement d'hydrolyse. (Moyenne de 3 expériences)

Paramètre	Témoin	Hydrolyse simple			Hydrolyse mixte	
	Glucose (150 g/l)	Chimique (HCl)	Amylase de malt	Amylase de <i>A. niger</i>	Chimique + malt	Chimique + <i>A. niger</i>
Valeur moyenne de titration (ml)	5,20 ± 0,05	16,90 ± 0,35 a	7,69 ± 0,24 b	7,86 ± 0,23 b	6,03 ± 0,23 c	6,33 ± 0,14 c
Teneur de glucose (g/l)	150	46,2 ± 1,0 a	101,6 ± 3,0 b	99,3 ± 2,9 b	129,6 ± 4,9 c	123,5 ± 2,7 c
Rendement d'hydrolyse (%)	100	30,8a	67,8b	66,2 b	86,4 c	82,3 c

Les valeurs suivies de la même lettre dans la même ligne ne sont pas différentes de façon statistique au seuil de 5%

Calculs du rendement d'hydrolyse et de la productivité en alcool.

Le rendement d'hydrolyse est évalué selon la formule suivante: $A/B \times 100$ où A est la quantité de glucose ayant réduit la liqueur de Fehling et B la quantité d'hydrolysats ayant réduit la liqueur de Fehling. La teneur en glucose de l'hydrolysats (g/l) s'obtient en multipliant le rendement d'hydrolysats par 150. La productivité en alcool est exprimée en g/l/h et se calcule en utilisant la formule P/t où P est la teneur en alcool du distillat (g/l) et t la durée de la fermentation en heures. Le rendement en alcool est calculé en utilisant la formule $M1/M \times 100$ où M1 est la masse de l'alcool obtenue après la fermentation et distillation et M la masse de la farine de manioc de départ.

Analyse des données

Les expériences ont été réalisées selon un dispositif expérimental classique en microbiologie comportant 3 répétitions indépendantes par traitement. La moyenne, l'écart type ont été calculées. L'analyse des données permettant de comparer les données sont réalisées grâce à le test t de Student-Fisher.

RÉSULTATS

Influence de la méthode d'hydrolyse sur les sucres du moût.

La méthode d'hydrolyse influence de façon significative la teneur du moût en sucres fermentescibles (tableau 1). L'hydrolyse chimique fournit le rendement le plus faible (30,8%). L'hydrolyse enzymatique fournit un rendement moyen avec des valeurs équivalentes pour la moisissure *A. niger* (66,2%) ou pour le malt d'orge (67,8%). L'hydrolyse mixte donne les rendements les plus élevés, car on a 82,3% et 86,4% respectivement pour le mélange avec *A. niger* et le malt. Il ressort de ces résultats que l'hydrolyse enzymatique utilisant *A. niger* est équivalente à celle issue du malt d'orge pour la production de sucres fermentescibles.

Influence de la concentration en amidon sur la production d'éthanol.

Lorsque la teneur en amidon augmente de 50 à 250 g/l, la teneur en alcool augmente aussi, sauf pour les traitements impliquant une hydrolyse enzymatique seule (tableau 2). L'hydrolyse chimique semble donc plus

Tableau 2: Influence de la concentration en amidon et de la méthode d'hydrolyse sur la teneur en alcool (g/l) après la fermentation. ((Moyenne de 3 expériences)

Concentration en amidon (g/l)	Chimique (HCl)	Hydrolyse simple		Hydrolyse mixte	
		Amylases de malt	Amylases de <i>A. niger</i>	Chimique + malt	Chimique + <i>A. niger</i>
50	13,53 ± 0,1a	14,92 ± 0,1b	15,41 ± 0,3c	21,45 ± 0,5d	20,33 ± 0,9d
100	31,34 ± 0,5a	42,52 ± 0,4c	41,54 ± 0,3b	47,10 ± 0,2e	43,78 ± 1,2d
150	49,38 ± 0,6a	69,65 ± 0,7b	69,46 ± 0,3b	71,86 ± 0,6c	71,16 ± 1,7c
200	68,1 ± 1,6a	74,82 ± 0,9b	85,91 ± 1,1 ^e	82,51 ± 1,0d	79,50 ± 0,7c
250	79,2 ± 1,2b	74,76 ± 0,4a	75,73 ± 0,7a	97,04 ± 1,3d	85,5 ± 1,0c

Les valeurs suivies de la même lettre dans la même ligne ne sont pas différentes de façon statistique au seuil de 5%

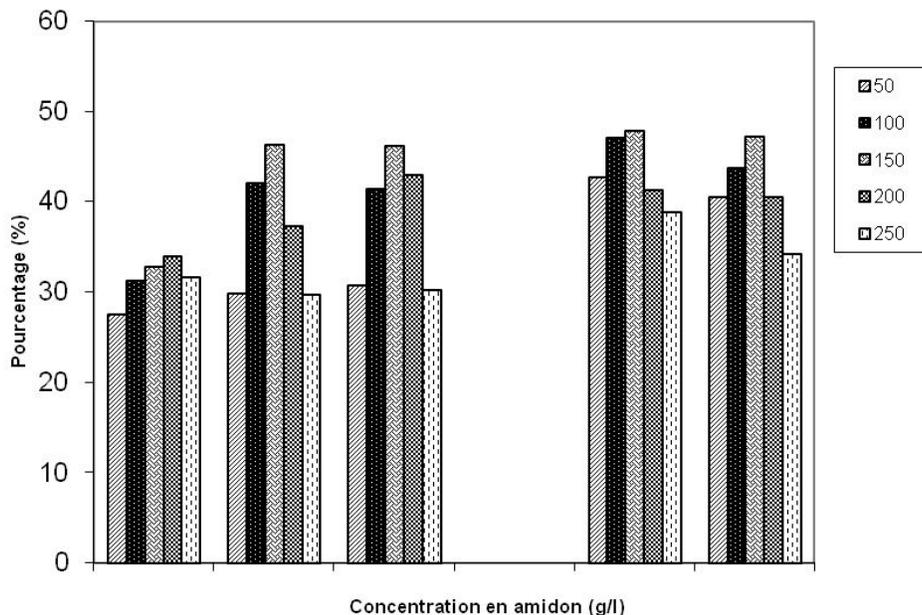


Figure 2. Influence de la concentration en amidon et de la méthode d'hydrolyse sur le rendement de fermentation

efficace à la concentration de 250 g/l d'amidon. Probablement le rapport enzyme/substrat n'est pas adapté pour une meilleure hydrolyse.

Influence de la concentration en amidon sur le rendement de la production d'alcool. (Fig. 2)

Le rendement de production d'alcool augmente avec la concentration en amidon de 50 à 150 g/l pour tous les traitements sauf pour l'hydrolyse chimique où elle atteint 200 g/l de substrat. Le rendement optimum de production d'alcool se situe autour de 44 à 48% pour une concentration en amidon de 150 g/l après une hydrolyse enzymatique ou mixte. Par contre, l'optimum de rendement de production d'alcool est de 34% pour l'hydrolyse chimique utilisant 200 g/l.

Influence des facteurs physico-chimiques pour optimiser la production d'alcool. (Fig. 3, 4, 5 et 6)

L'influence des facteurs tels que la température, le pH et la durée est considérable sur la production d'alcool. De 0 à 15°C, sa production est de 12 et 34 g/l. La température optimale pour la production d'alcool se situe autour de 30°C et permet d'obtenir près de 71 g/l d'alcool. Lorsque la température augmente à 45°C, la production d'alcool baisse à 42 g/l. Il est donc possible d'obtenir des quantités élevées d'alcool à température ambiante sous les tropiques (Fig. 3). Les pH très acide pH 1 ou très alcalin pH 12 sont défavorables à la production d'alcool (Fig. 4). La production d'alcool augmente de pH 1 à pH 6 où elle atteint son optimum de 71 g/l et baisse pour les pH 9 et 12. La production

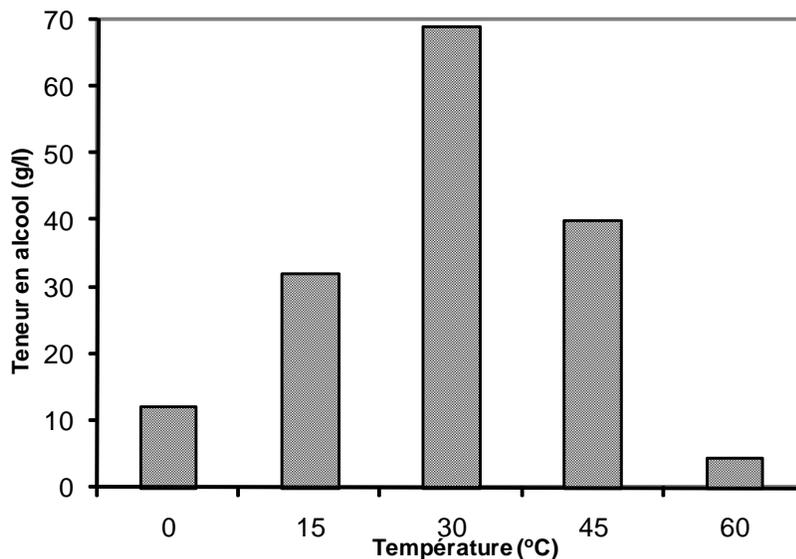


Figure 3. Influence de la température sur la teneur en alcool après fermentation par *Saccharomyces cerevisiae*

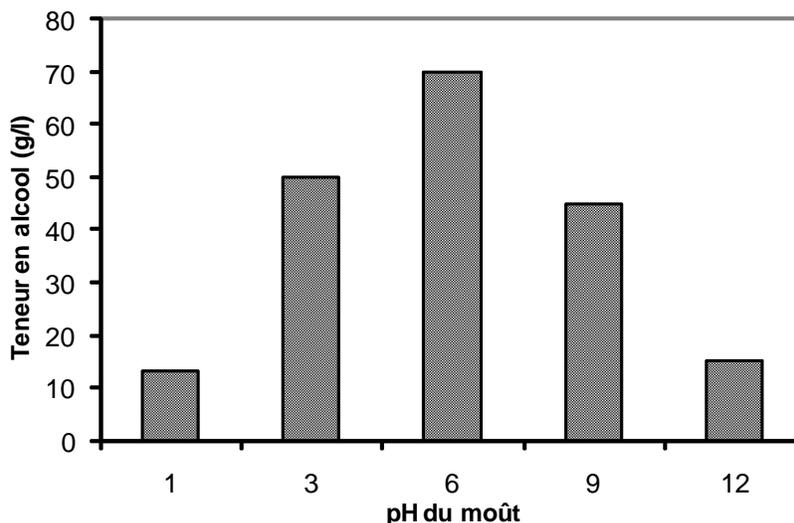


Figure 4. Influence du pH du moût sur la teneur en alcool après fermentation par *Saccharomyces cerevisiae*

d'alcool évolue très rapidement pendant les 36 premières heures car on atteint 51 g/l (Fig. 5). Elle ralentit progressivement, devient stationnaire à partir de 48 h et s'annule après 60-72 h. La productivité, (vitesse de production d'alcool par rapport au temps (g/l/h)) varie avec la durée de fermentation. Elle est plus élevée après 12 h de fermentation et plus basse après 72 h (Fig. 6). La productivité baisse progressivement: 1,90 g/l/h après 12 h à 1,00 après 72 h de fermentation respectivement.

DISCUSSION

Le rendement le plus élevé pour la production d'éthanol provient de l'hydrolyse mixte (chimique et enzymatique) de 150 g/l d'amidon de manioc; il est

de 47,9%. Selon Stoot (1986), la production d'éthanol à partir de l'amidon de manioc a un rendement théorique de 56,8% soit 51% en tenant compte d'une efficacité conventionnelle de 90%. Le rendement de 47,9% obtenu correspond à 93,7% de la valeur de cette efficacité. Ce qui peut s'expliquer par la présence de 7,8% d'eau dans la farine par une hydrolyse incomplète de l'amidon de manioc ou par la présence de certaines substances comme l'observe Garro et al (1990). Le rendement de la fermentation baisse aux concentrations élevées en substrat (200 à 250 g/l) lors de l'hydrolyse enzymatique; selon Garro et al (1990) et Czarnecki et Grajeck (1991), cette baisse serait justifiée par une inhibition des enzymes par la pression osmotique élevée du substrat et la teneur du produit. La courbe de

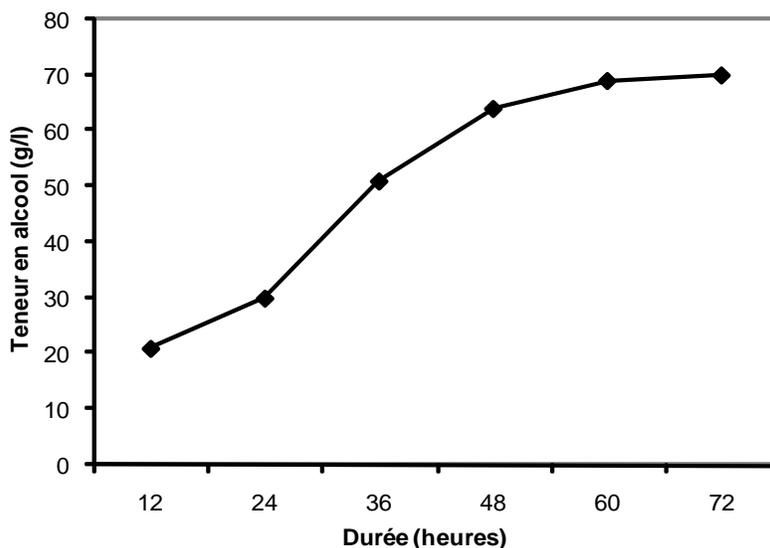


Figure 5. Influence de la durée de la fermentation par *Saccharomyces cerevisiae* sur la teneur en alcool

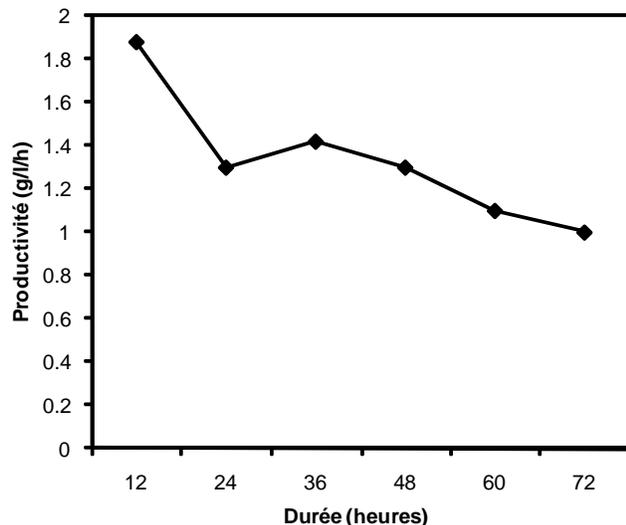


Figure 6. Influence de la durée de fermentation par *Saccharomyces cerevisiae* sur la productivité en alcool.

l'évolution du rendement de la fermentation montre que, à 150 g/l de substrat, la teneur en alcool augmente, mais le rendement baisse. Dès lors, en tenant compte de la productivité (quantité d'alcool produit par unité de temps) une concentration de 150 g/l de substrat semble plus rentable. L'hydrolyse mixte donne les meilleurs résultats, même aux fortes teneurs en substrat mais en tenant compte de la durée, de la complexité de son processus et de son coût financier et énergétique, il paraît plus rentable d'utiliser l'hydrolyse enzymatique à cause de la régénération possible des amylases fongiques dans diverses régions (Demeyer et al, 1981). Les meilleurs résultats pour la production d'alcool sont obtenus lorsque la fermentation est conduite avec un moût à pH 6, incubé à 30°C pendant 72 h avec la levure de bière. Les travaux de Raimbault (1981) et de Anthony (1981) confirment ces caractéristiques de la levure de bière. La durée de fermentation joue un rôle majeur sur le coût de production de l'alcool. S'il est vrai que les teneurs les plus élevées en alcool s'obtiennent après 72 h de fermentation, il faut noter que la productivité optimale se situe vers 36 h. Dès lors, dans le souci de minimiser les coûts tout en gagnant du temps, il serait nécessaire d'arrêter la fermentation après 36 ou 48 h. Nos résultats sont semblables à ceux de Czarnecki et Grajeck (1991) sur l'amidon de riz, de blé ou de maïs ou à ceux de Velasquez et al (1991) sur les jus de fruits. Toutefois, il convient de noter que l'hydrolyse mixte -amylases-glucoamylases est celle qui est actuellement employée pour obtenir les meilleures teneurs en glucose à l'échelle industrielle (Segard, 1985). La levure industrielle *S. cerevisiae* produit essentiellement de l'éthanol et pas de méthanol lors de la fermentation. Suite au décès

d'environ 50 camerounais en 1997 dans la province du Centre, une commission provinciale dénommée "Odontol " a publié ses conclusions sur cette affaire (1986), l'analyse des échantillons des boissons consommées a montré que la teneur en éthanol se situerait autour de 30% et celle du méthanol varierait de 33 à 52 %. Par ailleurs, les examens ophtalmologiques des patients ont confirmé l'action du méthanol sur la destruction du nerf optique (Moussala, communication personnelle). Afin de réduire les risques liés à l'intoxication par le méthanol, nous pouvons recommander l'utilisation des souches sélectionnées de *Saccharomyces* pour la production d'éthanol et non les fermentations artisanales non contrôlées de tous les microorganismes que l'on rencontre dans le vin de palme ou autres ferments. Nous recommandons aussi, tout comme la commission " Odontol ", l'organisation de campagnes de formation et d'information à l'attention des fabricants artisanaux et les consommateurs et la délivrance d'un permis aux seuls fabricants qui respecteraient les normes de qualité fixées. L'amidon de manioc pourrait ainsi être valorisé par la production industrielle d'éthanol. Même si la mélasse de canne à sucre est plus facile à utiliser dans les zones de production, la production de l'amidon reste beaucoup plus répandue et importante en zone forestière humide. Néanmoins, certaines améliorations sont nécessaires telles que l'amélioration des procédés et la sélection des microbes efficaces pour l'hydrolyse de l'amidon, la sélection des microbes plus producteurs, plus tolérants aux teneurs élevées d'alcool ou en sucres (Bechem et al, 2007), la construction de fermenteurs de grande capacité et l'amélioration de l'odeur de cet alcool issu de la fermentation de l'amidon.

Depuis plus de 15 ans, le Brésil produit environ 12 10⁹ litres d'alcool par an et 88% des véhicules récents l'utilisent comme bio carburant (Smith, 1996). L'Europe, l'Amérique et l'Asie s'intéressent activement à cette technologie considérée comme moins polluante pour l'environnement par rapport à l'essence. Malgré le prix de l'éthanol qui est encore 50% plus cher que celui de l'essence, la production d'alcool est intéressante pour plusieurs raisons. Elle permet de créer de nombreux emplois dans le monde rural ainsi que dans les industries; elle contribue à réduire l'effet de serre causant le réchauffement de la planète, à réduire aussi la pollution atmosphérique par les gaz émanant de moteurs à essence; elle permet de valoriser les déchets agro-industriels et d'obtenir des produits finis (Belin, 1984).

CONCLUSION

Avec l'augmentation vertigineuse des prix du carburant, de nombreux pays Africains ambitionnent de développer des unités de production de bio carburant à base d'éthanol. Ils devront d'abord choisir une source de glucides abondante et bon marché, puis utiliser un procédé optimisé de production d'éthanol. Nos pays devront aussi développer des politiques plus agressives de production alimentaire pour ne pas limiter la disponibilité des ressources locales au profit de la production d'énergie.

REFERENCES

Alais C., Linden G. (1994). Biochimie alimentaire. Paris, Masson, 3e édition, 244 p.

Anonyme. (1984). Mémento de l'agronome. Ministère de la Coopération, 3e édition, Paris

Anonyme. (1998). Conclusions de la commission provinciale dénommée " Odontol ". Rapport du 2/2/1998, Ministère de la Santé publique du Cameroun, Hôpital Central, 5 p.

Anthony R. (1981). La production des aliments et boissons. Pour la Science. xx : 12-31.

Bechem E. E. T., Omoloko C., Nwaga D. and Titanji V.P.K. (2007). Characterization of palm wine yeasts using osmotic, ethanol tolerance and the isoenzyme polymorphism of alcohol dehydrogenase. Afr J. of Biotechnology. 6 (14): 1715-1719.

Belin J.M. (1984). Les levures. In : Microbiologie alimentaire. Tome 2. Les fermentations alimentaires. Ed. Bourgeois C.M. et Larpent J.P., Lavoisier, Paris, 2e édition, Paris, p. 17-30.

Bocquet J. (1984). Généralités sur les microorganismes. In : Biotechnologie. Ed. Scriban R, Lavoisier, Paris, 2e édition.

Carrizales V. (1991). Cassava bread technology and its future. FAO, Rome, 108 p.

Czarnecki Z. and Grajeck W. (1991). Starch hydrolysis and its effect on product yield and microbial contamination in yeast ethanol fermentation. World J Microb and Biotechnol 6: 330-334.

Demeyer A., Jacob F., Jay M., Menguy and Perrier J. (1981). La conversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies. Paris, Tec et Doc.

Edwards D. (1974). The industrial manufacture of cassava products: an economy study. London. Tropical Products Institute, 42 p.

FAO. (1990). Utilisation des aliments tropicaux : racines et tubercules. Rome, 61 p.

FAO. (1992). Le manioc en Afrique tropicale. Rome, 66 p.

Garro O.E., Rodriquez and Gallieri D.A.S. (1990). Experimental approaches to rapid ethanol fermentation of glucose by *Zymomonas mobilis*. World J. Microb and Biotechnol., 6 : 67-72.

Hamer R.G. (1995). Enzymes in baking industry. In Enzymes in food processing. 2nd edition, Tucker G.A. and Woods L.F.J. editors, Chapman & Hall-Blackie Academic and Professional, Glasgow, U.K. p. 191-222.

Ngo Nsom J. et Abondo A. (1989). Les ressources alimentaires du Cameroun : répartition et valeur nutritionnelle. In : Cahiers de l'IMPM, Editions MESRES, Yaoundé, p. 68-69.

Ofuya C.O., Adesina A.A. and Ukpong E. (1990). Characterization of the solid-state fermentation of cassava. World J Microb and Biotechnol 6: 422-424.

Raimbault M. (1981). Fermentation en milieu solide : croissance des champignons filamenteux sur substrat. ORSTOM, Paris, 291p.

Scriban R. (1984). Cas des industries de l'amidon. In: Biotechnologie. Lavoisier, Paris, 2e édition, p. 356-363.

Smith J.E. (1996). Biotechnology. Cambridge University Press, 3rd edition, 236 p.

Stoot B.A. (1986). Panorama des énergies bio combustibles. Bulletin des Services Agricoles FAO, Rome, 117 p.

Ueki A., Horomo T., Sato E., Mitani A. and Ueki K. (1991). Ethanol and amylase production by a newly isolated *Clostridium* sp. Word J Microb and Biotechnol 7: 385-393.

Velasquez J.B., Longo E., Siero C, Cansado J., Calo P. and Villa. X. (1991). Improvement of the alcoholic fermentation of grape juice with mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* wild strains. World J Microb and Biotechnol 6: 285-301.

Westphal E., Embreets J., Ferwerda J.D., Van Gibmeesus H.A.E., Mutsaers H.J.W. et Westphal-Stevels J.M.C. (1985). Cultures vivrières tropicales avec référence spéciale au Cameroun. Ed. Pudoc, Wageningen, Pays Bas, p. 269-319.

Woods L.F.J. et Swinton S.J. (1995). Enzymes in the starch and sugar industries. In Enzymes in food processing. 2nd edition, Tucker G.A. et Woods L.F.J. editors, Chapman & Hall-Blackie Academic and Professional, Glasgow, U.K. p. 250-267.

Wu S.M. (1983). Determination of alcoholic production. Light Industry Press, Pekin, 248 p.

Received: 14/01/2008

Accepted: 18/07/2008