

# BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR

## BIOQUALITÉ

### E4 – BIOEXPERTISE AU SERVICE DE L'ORGANISME

**SESSION 2024**

Durée : 4 heures  
Coefficient : 5

**Matériel autorisé :**

« L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé. L'usage de la calculatrice sans mémoire « type collègue » est autorisé. »

**Documents à rendre avec la copie :**

Annexe A page 13/15  
Annexe B page 14/15  
Annexe C page 15/15

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.  
Le sujet se compose de 15 pages, numérotées de 1/15 à 15/15.

BTS Bioqualité		Session 2024
E4 – Bioexpertise au service de l'organisme	Code : 24BIO4EXP-1	Page 1 sur 15

### PRODUCTION D'AMIDON DE MANIOC

Le manioc (*Manihot esculenta*) est une plante très résistante et facile à cultiver. La racine peut se manger cuite, crue, ou encore transformée en farine ou semoule. Le manioc peut également satisfaire des besoins industriels tels que la production de biocarburant ou d'amidon utilisé en papeterie et en industrie pharmaceutique.

La racine de manioc se situe en quatrième position pour la production végétale contribuant à l'alimentation humaine, après le riz, le blé et le maïs. Ainsi, le manioc est un aliment essentiel dans de nombreux pays d'Afrique Subsaharienne. Sa culture reste cependant soumise à de nombreux aléas notamment climatiques.

Un regroupement de pays d'Afrique sub-saharienne travaille, dans le cadre d'une mission coopérative, sur l'optimisation du procédé de l'extraction de l'amidon de manioc.

#### 1. FABRICATION D'AMIDON DE MANIOC

##### 1.1. Étude de la matière première

Les étapes de la production traditionnelle d'amidon de manioc sont détaillées en annexe 1.

1.1.1. À l'aide de ce document, identifier les produits et les opérations du diagramme de fabrication de l'amidon à partir de racines de manioc, en complétant l'annexe A.

L'amidon, un des principaux glucides du manioc, est un polymère de D-gluco-pyranose.

1.1.2. Identifier les éléments de structures des deux polymères constituant l'amidon, en complétant l'annexe B.

1.1.3. Le manioc est un tubercule au goût neutre et non sucré. Argumenter cette affirmation à partir de l'annexe B.

##### 1.2. Rôle du broyage dans la détoxification du manioc

L'étape du broyage est primordiale dans la production de l'amidon et la détoxification du produit. Dans la méthode traditionnelle, elle s'effectue manuellement. Pour améliorer cette étape, l'utilisation d'un broyeur mécanique, présenté en annexe 2, est envisagée.

La linamarine est un glycoside cyanogène présent dans les feuilles et les racines du manioc. La linamarine peut libérer du cyanure d'hydrogène, substance chimique très toxique.

La linamarase est une enzyme présente dans certaines cellules de la racine de manioc. Elle permet une détoxification par la dégradation de la linamarine.

1.2.1. Proposer une définition pour l'expression « opération de broyage ».

1.2.2. Expliquer comment le broyage permet la détoxification.

1.2.3. Citer les deux paramètres permettant de maîtriser les caractéristiques d'un broyat lors d'une opération de broyage.

1.2.4. Montrer que le broyeur proposé en annexe 2 permet une production en continu ou en discontinu.

1.2.5. La production actuelle représente 450 kg de racines par jour.

Calculer la durée d'utilisation journalière du broyeur dans les conditions actuelles de production.

En déduire sa consommation énergétique journalière en kWh sachant qu'il est utilisé à sa puissance minimale.

1.2.6. Proposer un argumentaire afin d'inciter les petits producteurs locaux ayant peu de moyens ou de main d'œuvre à utiliser ce broyeur.

## 2. VALORISATION DES COPRODUITS DE LA FABRICATION D'AMIDON DE MANIOC

La production traditionnelle d'amidon de manioc fait appel à une étape de trempage-tamissage (annexe 1). Lors de cette étape, les plus grosses particules de manioc broyé sont éliminées. Ces dernières ne sont pas détruites et peuvent être utilisées pour la production de couscous de manioc, *via* des étapes d'essorage, de fermentation et de séchage.

La fermentation souvent spontanée, appelée rouissage, permet notamment le développement de nombreux arômes caractéristiques.

### 2.1. La flore dominante du rouissage

Comme l'indique l'annexe 3, le rouissage fait intervenir plusieurs types de fermentation :

- la fermentation lactique assurée majoritairement par des bactéries du genre *Lactobacillus* ;
- les fermentations propionique et butyrique assurées par des bactéries anaérobies du genre *Clostridium*.

2.1.1. Expliquer, à l'aide de l'annexe 3, pourquoi la fermentation assurée par les lacobacilles est de type hétérolactique.

2.1.2. Comparer les genres *Lactobacillus* et *Clostridium* en citant un point commun et une différence entre ces deux genres bactériens.

L'annexe C présente un schéma des éléments de la structure de la paroi de ces bactéries.

2.1.3. Identifier les éléments structuraux sur le schéma de l'annexe C.

Une population de levures, qui apparait en fin de fermentation, pourrait avoir un rôle dans la conservation de la pâte de manioc utilisée pour la production de couscous.

2.1.4. Proposer une hypothèse pour expliquer le rôle des levures.

Compléter le tableau de l'annexe C comparant la structure des bactéries et des levures. Noter (+) ou (-) pour la présence ou l'absence des éléments cellulaires.

### 2.2. Étude de l'activité de la linamarase, enzyme détoxifiante du manioc

Afin d'éliminer les composés toxiques de la racine de manioc de variété « waxy », il est possible d'utiliser le procédé de rouissage qui fait appel à une fermentation et qui est décrit dans l'annexe 3. Un des objectifs du rouissage est en effet d'induire la production endogène, par les cellules du manioc, et/ou exogène, apport par des ferments naturels, de linamarase.

L'annexe 4 présente les effets de la température et du pH sur l'activité de la linamarase.

2.2.1. Déterminer les paramètres physico-chimiques de mesure optimale de l'activité de la linamarase, à l'aide de l'annexe 4. Expliquer la démarche.

L'annexe 5 présente le protocole de mesure de l'activité de la linamarase.

2.2.2. Expliquer le rôle du PNP-glucoside et le rôle du tampon borate dans le dosage.

La valeur des paramètres physico-chimiques choisis pour la mesure de l'activité de la linamarase n'est pas optimale.

2.2.3. Expliquer pourquoi il n'est pas nécessaire de se placer en conditions optimales.

2.2.4. Calculer l'activité spécifique (notée  $z_{sp}$ ) de la linamarase dans les racines de manioc.

Afin d'évaluer la contribution de la linamarase endogène dans le processus de détoxification des composés cyanogéniques lors du rouissage, on mesure l'activité spécifique de la linamarase de différents ferments fongiques et du manioc.

2.2.5. Analyser le tableau de l'annexe 6 et conclure.

## 2.3 Analyse sensorielle du couscous de manioc

La durée de fermentation influe directement sur le goût du produit fini. Afin de déterminer la durée optimale de cette étape, proposer un test permettant de définir le produit le plus apprécié par une population parmi les 3 suivants :

- couscous A : 24 h de fermentation,
- couscous B : 36 h de fermentation,
- couscous C : 48 h de fermentation.

Le questionnaire suivant est proposé pour statuer sur le choix du produit en fonction du procédé de fermentation :

Couscous	J'aime	Je n'aime pas
A		
B		
C		

2.3.1. Citer le type d'épreuve correspondant à ce questionnaire.

2.3.2. Proposer un questionnaire permettant d'évaluer plus précisément l'appréciation du produit par un jury non formé.

## 3. AMÉLIORATION DU PROCÉDÉ

### 3.1. La fermentation

Afin de vérifier l'hypothèse du rôle des levures dans la conservation de la pâte fermentée, une croissance en présence de bactéries lactiques et de levures est mise en œuvre.

Les paramètres de croissance peuvent être également déterminés afin d'optimiser l'étape de fermentation.

L'annexe 7 présente les courbes de croissance des bactéries lactiques et des levures ainsi que l'évolution du pH lors du rouissage du manioc.

3.1.1. Identifier, en argumentant, les différentes phases des courbes de croissance des bactéries et des levures.

3.1.2. Calculer le taux de croissance exponentielle  $\mu_{exp}$  pour les bactéries lactiques et pour les levures, en expliquant la démarche.

En déduire les temps de génération.

Comparer ces paramètres de croissance.

3.1.3. Analyser précisément les relations entre l'évolution du pH et la croissance de ces deux types de microorganismes. Conclure quant au facteur qui favorise le développement des levures.

## 3.2 La décantation

Les étapes traditionnelles de décantation et d'essorage (étapes e. et f. de l'annexe 1) permettent de concentrer l'amidon issu des fines particules récupérées à l'étape d.

3.2.1. Présenter les conditions nécessaires à la séparation de deux composés par décantation. Expliquer pourquoi l'étape « e » est une étape de décantation.

La décantation est un procédé long. Ainsi, lorsque cette étape est réalisée en plein air (température proche de 30 °C), des risques de dégradation notamment par fermentation sont possibles.

3.2.2. Proposer un procédé permettant d'effectuer plus rapidement cette séparation en réduisant le risque de dégradation. Argumenter ce choix.

## 3.3. Le séchage final

Le séchage traditionnel de la pâte d'amidon de manioc se fait au soleil. Une production classique implique le séchage de 300 kg de pâte par jour. Cette pâte a un taux d'humidité constant de 25 % (m/m) avant séchage. L'amidon obtenu après séchage devrait avoir un taux d'humidité maximum de 8 % (m/m) pour garantir sa conservation.

Afin d'optimiser le séchage et de garantir une reproductibilité, il est envisagé d'utiliser un tunnel de séchage (annexe 8). À 60°C dans les conditions décrites, la capacité évaporatoire du sécheur est de 20 kg<sub>eau</sub>.h<sup>-1</sup>.

3.3.1. Expliquer le principe utilisé dans un tunnel de séchage.

3.3.2. Argumenter l'impact de l'humidité de l'amidon sur sa conservation.

3.3.3. Indiquer les paramètres influençant la vitesse d'un séchage. En déduire l'inconvénient du séchage au soleil.

3.3.4. Calculer la masse d'eau initiale dans la pâte d'une production journalière et la masse d'eau minimale à éliminer, en utilisant les notations proposées en annexe 8 pour vos calculs de bilan matière.

3.3.5. En supposant l'objectif d'éliminer 55 kg d'eau quotidiennement grâce au tunnel de séchage, déterminer la durée du séchage quotidien exprimée en heures et minutes.

3.3.6. Indiquer un avantage, autre que la reproductibilité, et un inconvénient du procédé de séchage industriel par rapport au séchage traditionnel.

## ANNEXE 1

### PRODUCTION TRADITIONNELLE D'AMIDON À PARTIR DE RACINES DE MANIOC

- a. Épluchage : il permet d'éliminer le cortex (peau extérieure) et de ne laisser que le cylindre central. On recommande une préparation manuelle à faire au champ afin d'éviter d'avoir à gérer les résidus.
- b. Lavage : à l'eau potable, pour éliminer la saleté.
- c. Broyage : à l'aide d'un grattoir, la racine est réduite en morceaux plus petits. Elle permet entre autres de libérer l'amidon en cassant les cellules et les amyloplastes (organites contenant l'amidon). Cette destruction des cellules a également un rôle dans la détoxification de la racine de manioc.
- d. Trempage et tamisage : le manioc broyé est mélangé à de l'eau puis tamisé sur des tamis de mailles différentes afin de séparer des fines particules et des particules plus grosses, celles-ci seront essorées, fermentées et séchées pour réaliser le couscous de manioc.
- e. Décantation : les fines particules récupérées à l'étape précédente sont mélangées à de l'eau puis laissées au repos. Au bout d'un certain temps apparaît une eau de surface claire et un "lait" qui sédimente. L'eau de surface est éliminée.
- f. Essorage : le lait récupéré est essoré pour extraire l'eau résiduelle. Il en résulte une pâte.
- g. Séchage : la pâte, qui est constituée essentiellement d'amidon, est séchée au soleil, à l'abri des oiseaux et poules, à l'abri de la poussière. Il est recommandé de sécher très rapidement l'amidon pour diminuer les risques de fermentation.
- h. Tamisage : l'amidon brut obtenu après séchage contient des mottes granuleuses constituées d'amidon et parfois d'impuretés. Un tamisage sur mailles fines permet d'obtenir un produit fin et de bonne qualité.

(source : FAO United Nations)

## ANNEXE 2

### CARACTÉRISTIQUES D'UN BROYEUR MÉCANIQUE

Puissance = 1,5 kW / 2,2 kW  
Tension = 220 V / 50 Hz, 110 V / 60 Hz  
Efficacité opérationnelle = 300 kg.h<sup>-1</sup>  
Vitesse = 800 à 1400 tpm (tour/minute)  
Longueur du rouleau = 26 cm  
Diamètre du rouleau = 14 cm  
Dimension = 34 x 38 x 75 cm<sup>3</sup>  
Poids = 45 kg



## ANNEXE 3

### LE ROUISSAGE DU MANIOC : UNE FERMENTATION TRADITIONNELLE DÉVOILÉE

**Frederic AMPE et Alain BRAUMAN** – Laboratoire de microbiologie, Orstom, BP181 Brassaville – Publié dans *BIOFUTUR* n°114 Juillet/Aout 1992

Le manioc, avec plus de 500 millions de consommateurs, est le principal aliment de nombreux pays tropicaux (...). Les tubercules sont utilisés sous forme d'aliments très divers (amidon aigre, farinha de mandioca, gari, tapioca, fou-fou, chikwangue, lafun, racines bouillies voire mangées crues pour certaines variétés) (...). Traditionnellement, la préparation du fou-fou (farine de manioc) et de la chikwangue (pains ou bâtons de manioc), principaux aliments d'Afrique centrale, débute par une fermentation des racines de manioc (...). Elle confère aux produits finis leur goût caractéristique et permet la dégradation des composés cyanogénétiques endogènes. La plupart des variétés de manioc cultivées en Afrique contiennent en effet de fortes teneurs en composés cyanés, essentiellement sous forme de linamarine (2-hydroxy-2-méthylbutyronitrile-B-D-glucopyranoside), souvent tenus pour responsables de l'apparition de certaines maladies neurologiques et de la formation des goîtres chez certaines populations. (...).

#### Fermentation hétérolactique ...

Au cours de la fermentation, les racines et le milieu s'acidifient très fortement (le pH passe de la neutralité à des valeurs égales ou inférieures à 4 en 48 heures environ), et la teneur en oxygène dissout devient nulle en une dizaine d'heures. Par ailleurs, la teneur encyanures totaux chute à des taux non toxiques de l'ordre de 20-40 ppm, soit une détoxification de 90%. Enfin, les principaux métabolites fabriqués au cours du rouissage sont les acides lactique et acétique ainsi que l'éthanol, produits caractéristiques des fermentations lactiques, auxquels s'ajoute le butyrate, principal responsable de l'arôme des aliments à base de manioc fermenté.

Parallèlement, une étude microbiologique a montré que les bactéries lactiques constituent la flore dominante du rouissage. Leur croissance suit étroitement celle des bactéries fermentaires totales pour atteindre un maximum d'environ  $10^9$  bactéries par gramme de manioc frais au bout de 48 heures de fermentation. La population lactique endogène du tubercule est composée en grande majorité de coques homofermentaires (*Lactococcus lactis*).

Cette flore est supplantée au début du processus par une flore hétérofermentaire, majoritairement des *Leuconostoc mesenteroides*, qui vont jusqu'à atteindre 50% de la flore lactique totale. Après 48 heures de fermentation, on observe un accroissement important du nombre de *Lactobacillus plantarum*, bactéries qui supportent des pH de l'ordre de 4. Ces bactéries lactiques sont responsables de la production d'acide lactique, acétique et d'éthanol ainsi que de la forte acidification du milieu.

Les acides propionique et butyrique sont produits, quant à eux, par une flore anaérobie stricte au sein de laquelle les clostridies, et notamment *Clostridium butyricum*, jouent un rôle important. Ces dernières peuvent d'ailleurs se développer en début de processus grâce à la flore lactique hétérofermentaire qui maintient le pH du milieu aux environs de 5. La prédominance des bactéries lactiques empêche la prolifération des bactéries pathogènes et assure une meilleure conservation des produits transformés. Le rouissage est donc une fermentation hétérolactique, dans laquelle une production de butyrate, peu apprécié sous nos latitudes, est responsable de l'arôme caractéristique du fou-fou et de la chikwangue. Ce n'est qu'en fin de fermentation que se développe une population de levures qui n'a pas de rôle actif dans le rouissage mais qui pourrait intervenir dans la conservation de la pâte fermentée.

#### ... et activités enzymatiques

Malgré la très forte teneur en amidon (80% de la matière sèche), l'activité amylolytique détectée au cours de la fermentation reste très faible. L'amidon, peu dégradé, n'est donc que peu utilisé par les bactéries fermentaires comme source de carbone. En revanche, les sucres réducteurs sont largement consommés au cours de la fermentation, avec une nette préférence pour le saccharose. Enfin, les composés pectiques des parois cellulaires pourraient servir de source alternative de carbone pour les bactéries importantes impliquées dans le processus; certaines bactéries pectinolytiques, comme une souche de *Bacillus polymyxa*, ont d'ailleurs été déjà isolées du rouissage. (...)

En ce qui concerne les composés cyanés, l'origine des activités de type linamarase a été déterminée.

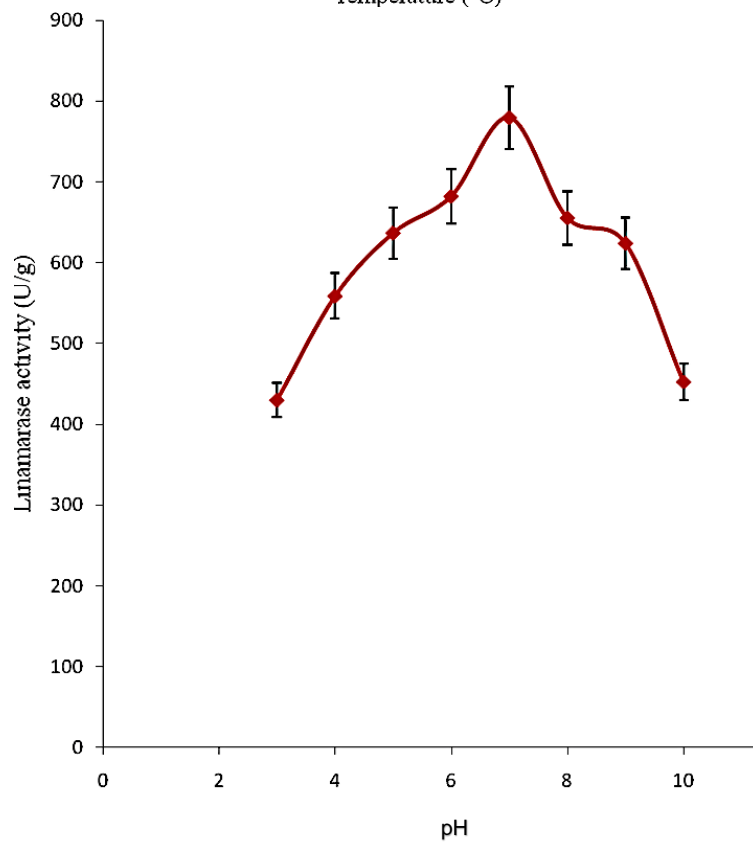
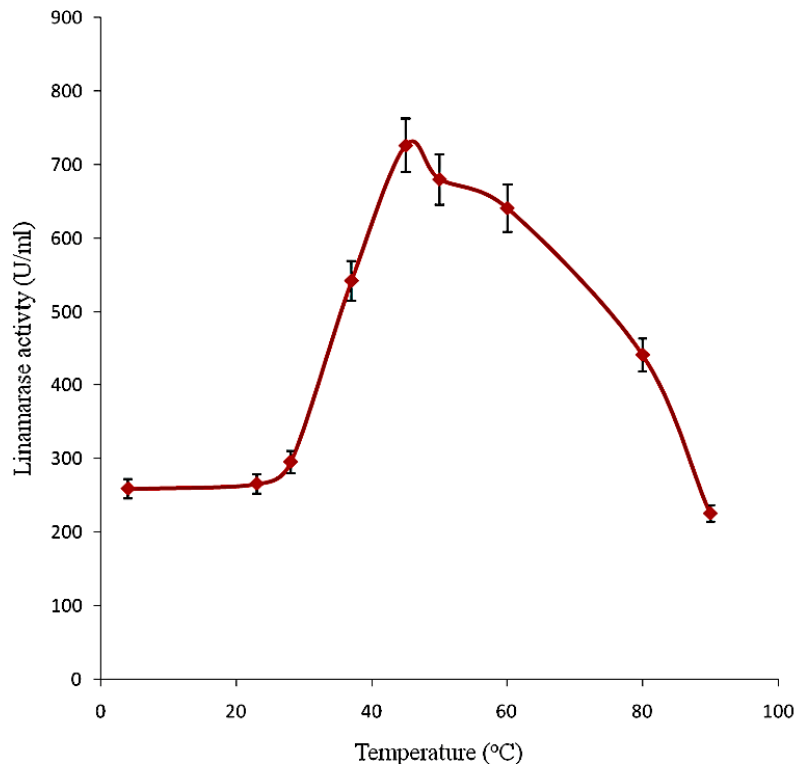
De hautes activités endogènes ont été mesurées et la linamarine-b-D-glucosidase est entièrement responsable de la détoxification. En effet, lorsque les racines sont râpées avant la fermentation – procédé suivi pour la préparation du gari – toute trace de composé cyané disparaît moins de deux heures après le début de la transformation. La dégradation des cellules végétales permet donc, au cours du rouissage, la mise en contact de l'enzyme (linamarase) et de son substrat (linamarine) situés dans des compartiments végétaux différents.

Par ailleurs, des activités linamarase ont été retrouvées chez certaines souches de *Lactobacillus plantarum*. De plus, les bactéries lactiques isolées et cultivées en milieux riches se sont montrées résistantes à des teneurs de 200 à 500 ppm de cyanures, ce qui rend ces bactéries particulièrement adaptées à ce milieu.

BTS Bioqualité		Session 2024
E4 – Bioexpertise au service de l'organisme	Code : 24BIO4EXP-1	Page 7 sur 15

## ANNEXE 4

### EFFETS DE LA TEMPÉRATURE ET DU pH SUR L'ACTIVITÉ DE LA LINAMARASE





## ANNEXE 5

### PROTOCOLE DE MESURE DE L'ACTIVITÉ DE LA LINAMARASE

#### Mise en œuvre :

20 g de racine de manioc sont broyés et homogénéisés dans 50 mL de HCl à 0,1 mol.L<sup>-1</sup> pendant 3 minutes. L'homogénat est filtré par centrifugation à 5000 g pendant 3 minutes et le surnageant résultant est récupéré puis le pH ajusté à 6,8 par une solution de NaOH. Le surnageant est conservé à 4 °C jusqu'à analyse.

	Témoin	Essai
Solution de PNP-glucoside à 210 g.L <sup>-1</sup>	0,1 mL	0,1 mL
Tampon phosphate pH 6,8	1,5 mL	1 mL
Extrait de manioc	-	0,5 mL
Incuber exactement 1 h à 30°C		
Tampon borate pH 9 à 0,2 mol.L <sup>-1</sup>	2 mL	2 mL
Eau désionisée	4 mL	4 mL
Mesurer l'absorbance à 400 nm.		

Le p-nitrophényl β-D-glucoside (PNP-glucoside) est un analogue artificiel de la linamarine.

#### Tableau de résultats :

	Témoin	Essai
Absorbance du PNP à 400 nm	0,026	0,217

#### Données :

- coefficient d'absorbance linéique molaire :  $\epsilon_{\text{PNP à 400 nm}} = 18000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ .
- 1 UI de linamarase est définie comme la quantité d'enzyme produisant 1 μmol de PNP par minute.
- concentration massique en protéines :  $\rho_{(\text{protéine}, \text{racine de manioc})} = 0,072 \text{ mg.mL}^{-1}$ .
- longueur du trajet optique :  $l = 1 \text{ cm}$ .

#### Exploitation des résultats :

$$Z_{sp(\text{linamarase}, \text{racine manioc})} = \frac{\frac{\Delta A}{\Delta t} * 1}{l * \epsilon_{\text{PNP}}} * V_{\text{milieu de lecture}} \frac{1}{\rho_{(\text{protéine}, \text{racine manioc})}}$$

## ANNEXE 6

### TABLEAU DES MESURES DE L'ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE EN LINAMARASE ENDOGENE OU EXOGENE

Source de l'enzyme	Concentration catalytique (UI.L <sup>-1</sup> )	Concentration en protéines (mg.mL <sup>-1</sup> )	Activité spécifique (UI.g <sup>-1</sup> )
<i>A. terreus</i>	2,04	0,363	5,62
<i>A. sydowi</i>	0,67	0,688	0,97
<i>A. carneus</i>	0,44	0,084	5,24
<i>F. equiseti</i>	1,78	0,142	12,53
Manioc « waxy »	2,69	0,072	37,36

A = *Aspergillus*

F = *Fusarium*

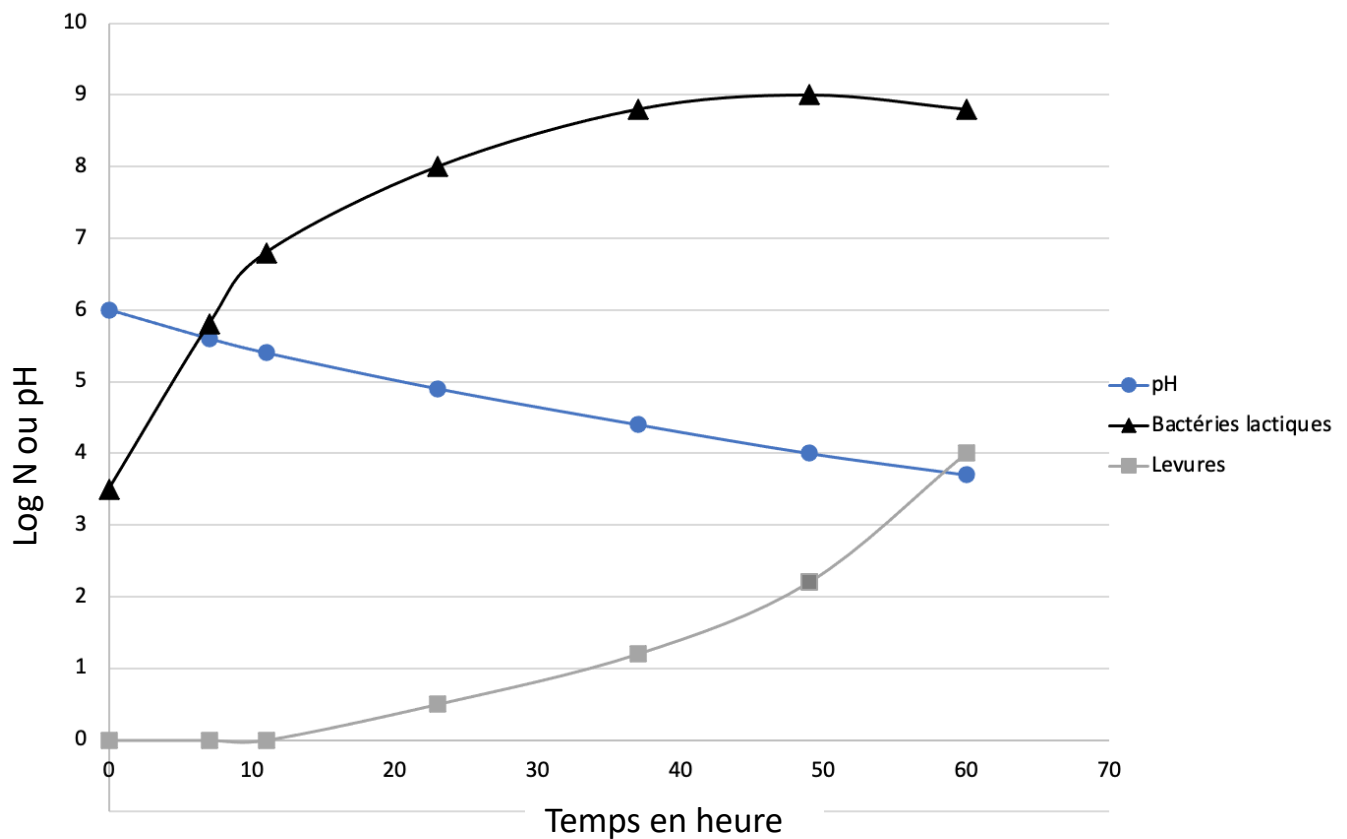
D'après Ogundu et al., Nature & Science 2014 ; 12(11).

## ANNEXE 7

### ÉTUDE DE LA CROISSANCE DES LEVURES ET DES BACTÉRIES LACTIQUES LORS DU ROUISSAGE DU MANIOC

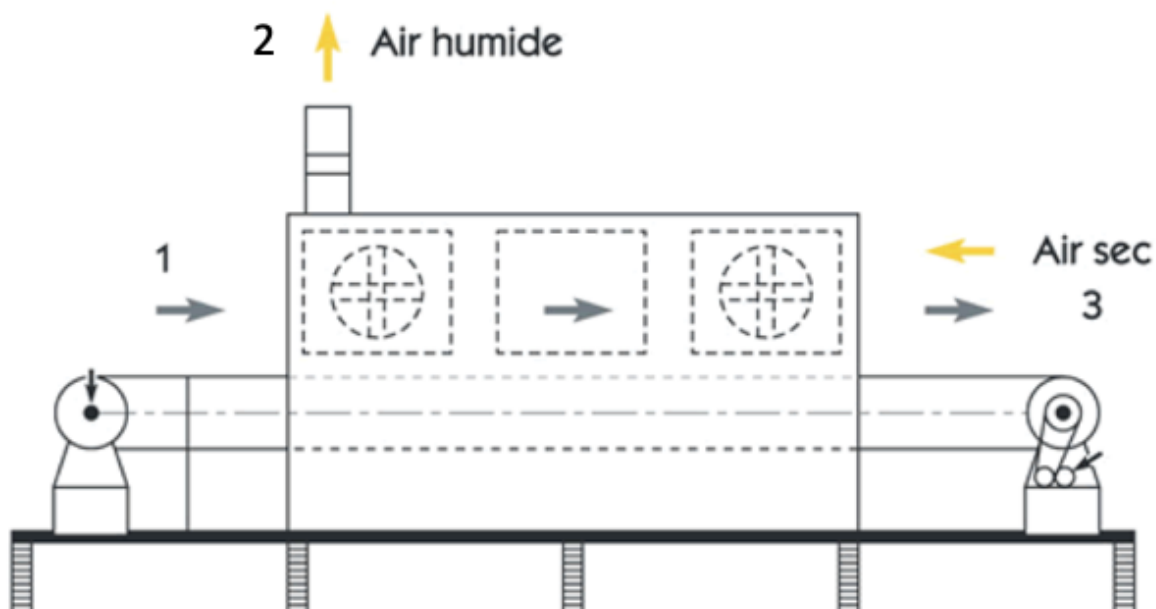
Temps en heure	Bactéries lactiques en Log N	Levure en Log N	pH
0	3,4	0,1	6,0
6	5,8	0,1	5,6
12	6,8	0,1	5,4
24	8,0	0,6	4,9
36	8,8	1,2	4,4
48	9,0	2,2	4,0
60	8,8	4,0	3,8

Donnée :  $G = \frac{\ln 2}{\mu_{exp}}$



## ANNEXE 8

### SÉCHEUR À TUNNEL



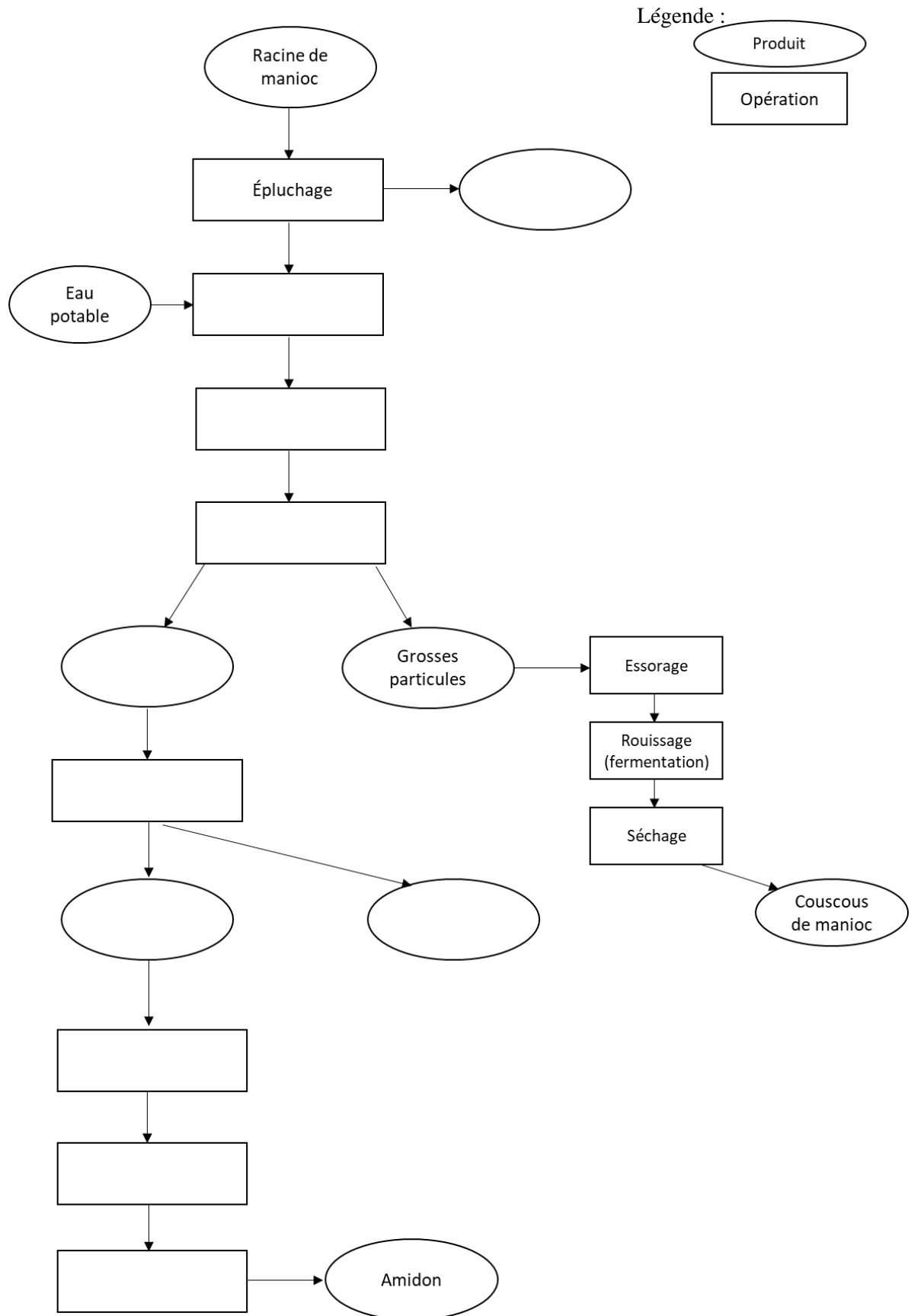
1 : entrée du produit humide, débit E  
 3 : sortie du produit sec, débit S  
 2 : sortie de l'air humide, débit d'eau extraite H

#### Caractéristiques :

Débit produit	Température	Capacité de traitement horaire
100 à 1000 kg.h <sup>-1</sup>	30 °C à 250 °C	1 à 50 kg <sub>eau</sub> .h <sup>-1</sup> .m <sup>-3</sup> <sub>air</sub> (selon le produit et l'humidité de l'air)

## ANNEXE A

### À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE DIAGRAMME DE FABRICATION DE L'AMIDON DE MANIOC, MÉTHODE TRADITIONNELLE

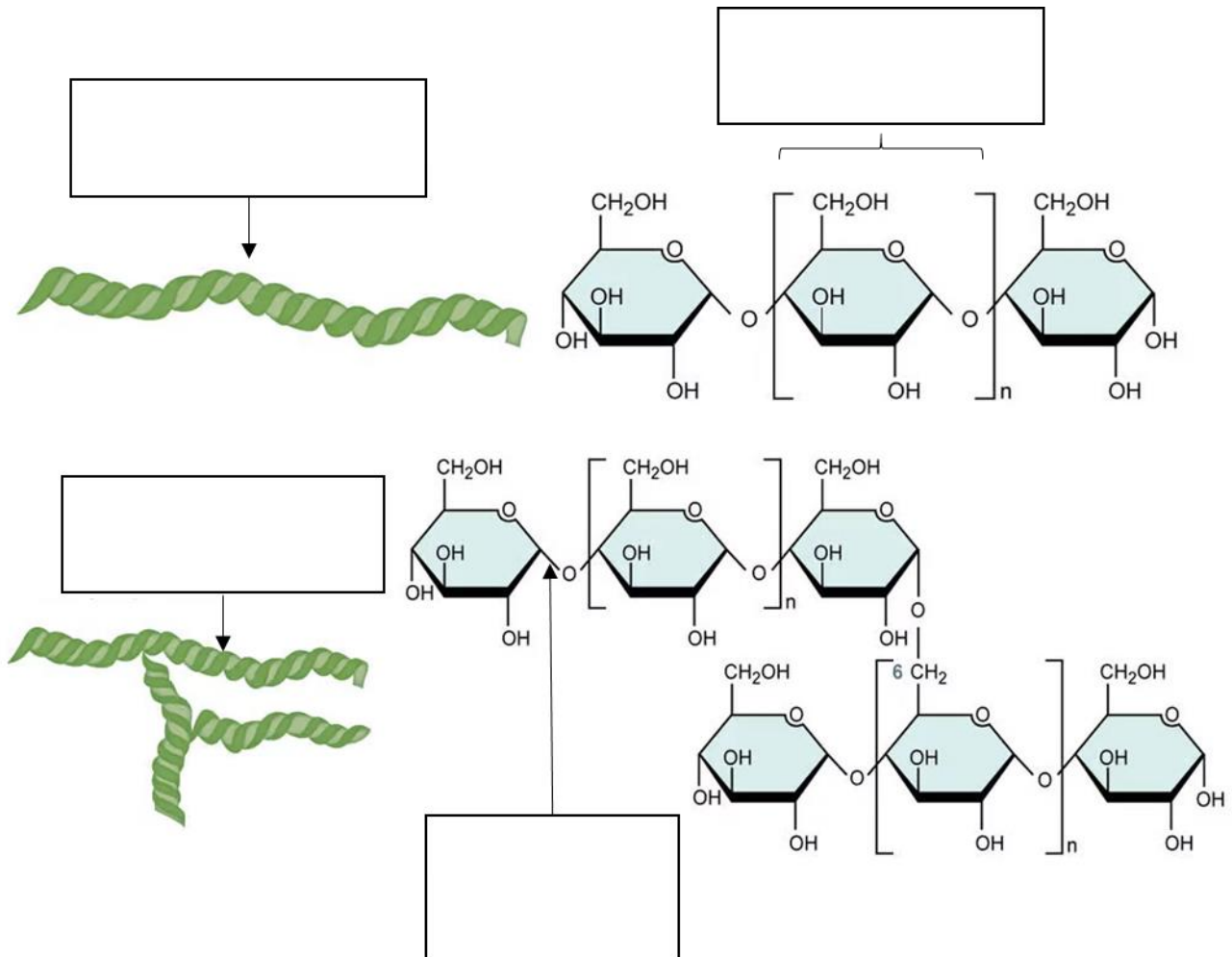


## 1.2

## ANNEXE B

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

STRUCTURE DES DEUX POLYMÈRES CONTITUANT L'AMIDON



**NOM DE FAMILLE** (naissance) :  
(en majuscules)

**NOM DE FAMILLE** (naissance) :  
(en majuscules)

(en majuscules)

**PRENOM :**

**RENOM :**  
(en majuscules)

**N° candidat :**

**N° d'inscription :**



Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

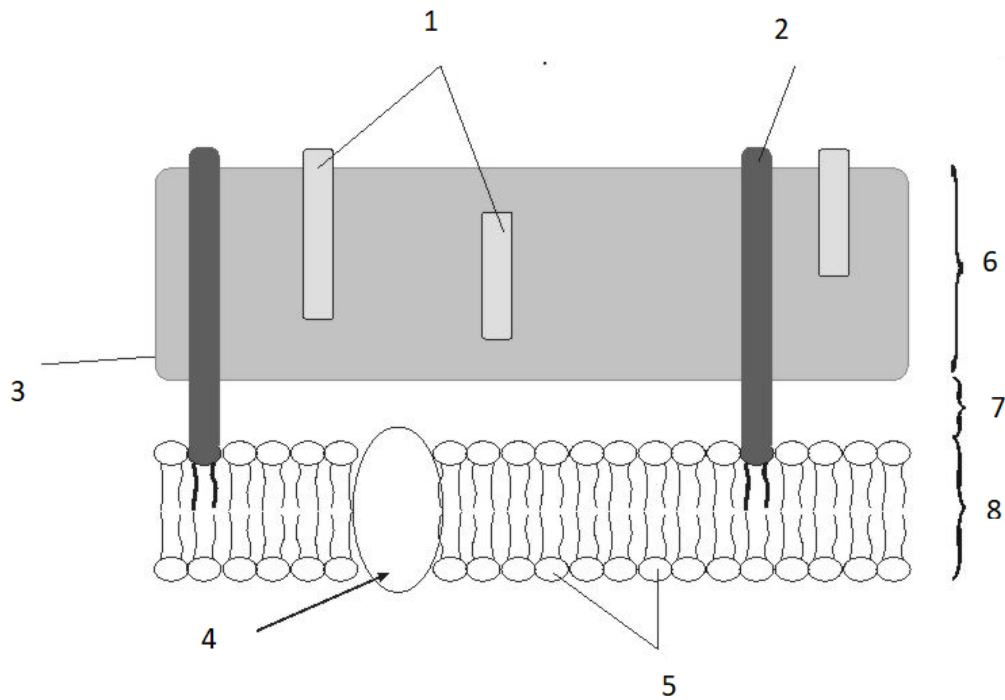
**Né(e) le :**

(Les numéros figurent sur la convocation, si besoin demander à un surveillant.)



**À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE**

## SCHÉMA DE LA PAROI BACTÉRIENNE



## ULTRASTRUCTURE COMPARÉE DES LEVURES ET DES BACTÉRIES

ORGANITES	LEVURES	BACTÉRIES
NOYAU		
PAROI		
MITOCHONDRIE		
RIBOSOME		

TYPE CELLULAIRE		

**NOM DE FAMILLE** (naissance) :  
(en majuscules)

**NOM DE FAMILLE** (naissance) :  
(en majuscules)

(en majuscules)

**PRENOM :**

**RENOM :**  
(en majuscules)

**N° candidat :**

**N° d'inscription :**



Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

**Né(e) le :**

(Les numéros figurent sur la convocation, si besoin demander à un surveillant.)