



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de
la Recherche Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique
Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement (LSTE)

Thèse de Doctorat
en
Sciences et Techniques de l'Environnement

Présentée par
Mlle BOUKROUFA MERYEM
Master en Génie de l'Environnement de l'ENP

Intitulée
**Extraction de Substances à Haute Valeur
Ajoutée à Partir de Rejets de l'Industrie
Agro-Alimentaire**

Soutenue publiquement le 20/04/ 2016 devant le jury composé de :

Présidente :	Mme Amina HELLAL	Professeur ENP
Directeurs de Thèse :	Mme Chahrazed BOUTEKEDJIRET	Professeur ENP
	Mr Farid CHEMAT	Professeur UAPV France
Examineurs :	Mme Ourida MOHAMMEDI	Professeur Université Blida
	Mr Said SEBBIH	Professeur USTHB
	Mr Abdelkader NAMANE	Maître de Conférences (A) ENP

ENP 2016



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de
la Recherche Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique
Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement (LSTE)

Thèse de Doctorat
en
Sciences et Techniques de l'Environnement

Présentée par
Mlle BOUKROUFA MERYEM
Master en Génie de l'Environnement de l'ENP

Intitulée
**Extraction de Substances à Haute Valeur
Ajoutée à Partir de Rejets de l'Industrie
Agro-Alimentaire**

Soutenue publiquement le 20/04/ 2016 devant le jury composé de :

Présidente :	Mme Amina HELLAL	Professeur ENP
Directeurs de Thèse :	Mme Chahrazed BOUTEKEDJIRET	Professeur ENP
	Mr Farid CHEMAT	Professeur UAPV France
Examineurs :	Mme Ourida MOHAMMEDI	Professeur Université Blida
	Mr Said SEBBIH	Professeur USTHB
	Mr Abdelkader NAMANE	Maître de Conférences (A) ENP

ENP 2016

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire Sciences et Techniques de l'Environnement (LSTE) de l'Ecole Nationale Polytechnique d'El-Harrach, en collaboration avec le Groupe de Recherche en Eco-Extraction des produits Naturels (GREEN), LSQPOV, UMR 408 de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France).

Je tiens à adresser en premier lieu mes remerciements à ma Directrice de Thèse, Madame Chahrazed. BOUTEKEDJIRET, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'El Harrach, sans qui ce travail de thèse n'aurait pas pu être réalisé. La rédaction d'une thèse entière de remerciements ne suffirait pas à lui exprimer ma gratitude pour m'avoir encadrée et accompagnée durant toutes ces années.

Je tiens également à remercier mon Co-Directeur de Thèse, Monsieur Farid CHEMAT, Professeur à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et responsable du Groupe de Recherche en Eco-Extraction des produits Naturels (GREEN), LSQPOV, UMR 408, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire de recherche et pour ses conseils avisés.

Je tiens à remercier Madame Amina HELLAL, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'El Harrach pour avoir accepté de présider le Jury de cette Thèse. Je tiens également à la remercier pour m'avoir encouragée et aidée tout au long de ces trois années.

Je remercie très sincèrement Madame Ourida MOHAMMEDI, Professeur à l'université Saad Dahleb de Blida, Monsieur Said SEBBIH, Professeur à l'USTHB, ainsi que Monsieur Abdelkader NAMANE, Maître de Conférences (A) à l'Ecole Nationale Polytechnique d'El Harrach pour avoir accepté d'examiner ma thèse.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Madame Njara RAKOTOMANOMANA, Maître de Conférences HDR de l'équipe GREEN de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France), Loïc PETIGNY, doctorant de l'équipe GREEN de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) pour leur contribution à la réalisation de cette thèse ; ainsi qu'à tous les doctorants de l'équipe GREEN pour leur aide, leur bonne humeur et leur joie de vivre.

Je tiens à adresser mes remerciements à tous les doctorants du Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement (LSTE) de l'Ecole Nationale Polytechnique et tout particulièrement un grand merci à mademoiselle Ahlam TOUAHRIA, ingénieur du Laboratoire qui n'hésitait pas à faire des heures supplémentaires juste pour me laisser finir mes manipulations. Je lui souhaite beaucoup de bonheur et de réussite dans la vie.

Je tiens à remercier Madame Sadjia BERTOUCHE, Maître de Conférences à l'USTHB, et Chercheur au sein du LSTE pour tout ce qu'elle a fait pour moi.

Je tiens à remercier également ma famille : ma Mère, mon Père, mes Frères pour avoir été là pour moi.

Je tiens aussi à remercier toutes mes amies (nawel, kahina, chiraz, jajat, ahlem, khadidja, kenchlaoui, kadem, hadjer).

Et pour finir, je remercie semchou.

Avant-propos

Une partie des travaux présentés dans cette thèse a donné lieu à la publication d'un article scientifique dans une revue internationale à comité de lecture, et deux communications par affiche dans des congrès internationaux.

➤ *Publication Internationale*

Meryem Boukroufa, Chahrazed Boutekedjiret, Loïc Petigny, Njara Rakotomanomana, Farid Chemat.

«Bio-refinery of Orange peels waste: a New Concept based on Integrated Green and Solvent Free Extraction Processes to obtain Essential Oil, Polyphenols and Pectin».

Ultrasonics Sonochemistry 24, (2015) 72-79. **IF = 3,816**

www.elsevier.com/locate/ultson

➤ *Communications Internationales par affiche*

1/ **Meriem Boukroufa**, Chahrazed Boutekedjiret, Njara Rakotomanomana, Farid Chemat

«A novel idea in food extract field: Solvent Free Extraction of Polyphenols and Essential oil from orange peels using microwave and ultrasound technologies».

14th Meeting of the European Society of Sonochemistry (ESS14), June 2-6, 2014, Avignon, France.

2/ **Meryem Boukroufa**, Chahrazed Boutekedjiret

«Limonene an Alternative Solvent to n-Hexane for Extraction of Orange Peel Carotenoids».

International Workshop on Alternative Solvents for Extraction, Purification and Formulation – WAS, Avignon, France, June 4, 2015.

ملخص

العنوان: استخراج مواد ذات قيمة مضافة عالية من نفايات تصنيع الأغذية

يرتكز عمل هذه الأطروحة على إدماج التكنولوجيات المبتكرة مثل الميكروويف والموجات ما فوق الصوتية في مبدأ المصفاة الحيوية للثمين الكلي لمنتوج ثانوي ذات حجم مهم بالنسبة للصناعة الغذائية، والمتمثل في منتجات صناعة تحويل الحمضيات الى عصائر. الهدف من ذلك هو استخراج بدون مذيبات منتجات ذات قيمة عالية، يمكن استخدامها في مختلف القطاعات مثل د-ليمونين كمذيب أو مخفف، البكتين كوسيط لتركييب الأطعمة أو البولي فينول كمادة مضادة للأكسدة ومحافظة للأطعمة. أظهرت النتائج أن طرق استخراج الزيت العطري بمساعدة الميكروويف هي أكثر فعالية من طريقة الجرف ببخار الماء التقليدية. بالإضافة الى ذلك، مكنا جمع الميكروويف والموجات ما فوق الصوتية والمياه المعاد تدويرها من قشور البرتقال، و الليمونين، بالحصول على مردودات من البولي فينول ، البكتين و الكاروتينات أكبر من تلك التي حصلنا عليها بالنقع و في وقت اقصر باستعمالنا لموارد البرتقال فقط.

من خلال نتائج هذا البحث، يثبت مبدأ المصفاة الحيوية بصفة وإفية القيمة المضافة اقتصاديا وبيئيا المحصل عليها باستعمال تكنولوجيات الاستخلاص للثمين المنتوجات الثانوية لصناعة تحويل الحمضيات.

كلمات المفاتيح : الكيمياء الخضراء، المصفاة الحيوية، نفايات تصنيع الأغذية، المنتجات الثانوية للحمضيات، ميكروويف، الموجات ما فوق الصوتية، الزيوت العطرية، البولي فينول ، البكتين، الكاروتينات.

Abstract

Heading: Extraction of High Value-Added Products from By-Product of Food Industry

In this work, we focus on the combination of the bio-refinery principle with innovative technologies namely microwave heating and ultrasound to the total valuation of a significant by-product of food industry especially from the processing of citrus fruit juices. The objective is to extract without any solvent high value-added products which can be used in various sectors such as d-limonene as solvent or diluent, pectin as texturing agent of food or polyphenols as antioxidants and conservatives foods.

The results showed that the assisted microwaves extraction processes of essential oil are more effective than conventional steam distillation. Moreover, the combination of microwave, ultrasound and recycled interstitial water from orange peel, and limonene, allowed us to obtain higher yields in polyphenols, pectin and carotenoids than those obtained by conventional maceration, in a reduced time while using only the resources provided by the orange.

Through the results of this research, the proposed bio-refinery concept, amply shows the economic as well as environmental added value, brought by extraction technologies for the valorisation of by-products resulting from citrus industry

Key words: Green extraction; Bio-refinery; By-product of food industry, Citrus by product, Microwaves; Ultrasounds; Essential Oil; Polyphenols; Pectin, Carotenoids.

Résumé

Intitulé : Extraction de Substances à Haute Valeur Ajoutée à Partir de Rejets de l'Industrie Agro-Alimentaire

Le travail de cette thèse porte sur la combinaison du principe de la bio-raffinerie avec l'application des technologies innovantes comme le chauffage par micro-ondes et la cavitation ultrasonore pour la valorisation totale d'un sous-produit important en volume de l'industrie agroalimentaire à savoir les sous-produits de la transformation des agrumes en jus de fruits. L'objectif est d'extraire sans solvants des produits à forte valeur ajoutée et pouvant servir dans divers secteurs tels que le d-limonène comme solvant ou diluant, les pectines comme agent de texturation des aliments ou les polyphénols comme agent antioxydant et de conservation des aliments.

Les résultats ont montré que les procédés d'extraction assistés par micro-ondes de l'huile essentielle, sont plus efficaces que l'entraînement à la vapeur d'eau. Par ailleurs, la combinaison des micro-ondes, des ultrasons et de l'eau interstitielle recyclée à partir des écorces d'orange, et le limonène, nous a permis d'obtenir des rendements en polyphénols, en pectine et en caroténoïdes plus importants que ceux obtenus par simple macération en un temps réduit en utilisant uniquement les ressources fournies par l'orange.

A travers les résultats de cette recherche, le concept de bio-raffinerie proposé, démontre amplement, la valeur ajoutée aussi bien économique qu'environnementale, apportée par les technologies d'extraction pour la valorisation des co-produits de l'industrie agrumicole.

Mots clés : Chimie verte, Bio-raffinerie, Rejets de l'industrie agro-alimentaire, Sous-produits des agrumes, Micro-ondes, Ultrasons, Huile Essentielle, Polyphénols, Pectines, Caroténoïdes.

Sommaire

LISTE DES ABREVIATIONS _____	xiv
LISTE DES FIGURES _____	xi
LISTE DES TABLEAUX _____	xi
INTRODUCTION GENERALE _____	15
PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE _____	1
CHAPITRE I : GENERALITES _____	20
I.1. L'INDUSTRIE AGROALIMENTAIRE _____	20
I.2. LA BIORAFFINERIE DU VEGETAL _____	21
I.3. LES AGRUMES _____	21
I.3.1. Origine et histoire des agrumes _____	22
I.3.2. La production d'agrumes _____	23
I.3.3. Les pays méditerranéens _____	23
I.3.4. Taxonomie et diversité génétique : Classification botanique _____	23
I.3.5. Caractères généraux des agrumes _____	24
I.3.6. Consommation _____	26
I.4. LES COMPOSES BIOACTIFS _____	27
I.4.1. LES HUILES ESSENTIELLES _____	27
I.4.2. LES POLYPHENOLS _____	30
I.4.3. LES CAROTENOÏDES _____	37
I.5. LES SOLVANTS _____	43
I.5.1. Règlementation _____	46
I.5.2. Définition d'un bio-solvant _____	47
I.5.3. Les principales familles de bio-solvants _____	47
I.5.4. Domaines d'utilisation des agro-solvants _____	48
CHAPITRE II: LES PROCEDES D'EXTRACTION _____	51
II.1. PROCEDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES _____	51
II.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau (EV) _____	51
II.1.2. Hydrodistillation (HD) _____	51
II.1.3. Hydrodiffusion _____	52
II.1.4. Expression à froid _____	52
II.1.5. Extraction assistée par micro-ondes (MAE) _____	52

II.2. PROCÉDES D'EXTRACTION PAR SOLVANT	55
II.2.1. Extraction par solvant fixe	55
II.2.2. Extraction par solvant volatil	55
CHAPITRE III : NOTIONS SUR LES MICRO-ONDES ET LES ULTRASONS	59
III.1. LES MICRO-ONDES	59
III.1.1. La découverte du four micro-ondes	59
III.1.2. Définitions	60
III.1.3. Le four micro-ondes	61
III.1.4. Les interactions Ondes - Matière	61
III.1.5. Domaines d'application	62
III.1.6. Application des micro-ondes dans l'industrie agroalimentaire	63
III.1.7. Mécanisme de l'extraction par micro-ondes	67
III.2. LES ULTRASONS	68
III.2.1. Génération des ondes ultrasonores	69
III.2.2. Principe des ultrasons	69
III.2.3. Domaines d'utilisation des ultrasons	71
CHAPITRE IV : LES PLANS D'EXPERIENCES	76
IV.1. LES PLANS D'EXPERIENCES	76
IV.1.1. Définitions	76
IV.1.2. La méthode des plans d'expériences	77
IV.2. LES PLANS COMPOSITES	77
PARTIE II : MATERIELS ET METHODES	82
II.1. MATIERE VEGETALE	84
II. 2. EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE	84
II. 2. 1. Extraction par Entraînement à la Vapeur d'Eau «EV»	84
II. 2. 2. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes «SFME»	85
II.2.3. Extraction par Hydro-diffusion Assistée par Micro-ondes et Gravité «MHG»	86
II. 2. 4. Rendement en huile essentielle	87
II. 3. EXTRACTION DES POLYPHENOLS	88
II. 3. 1. Extraction assistée par ultrasons «EUS»	88
II. 3. 2. Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons «EUS»	89
II. 3. 3. Calcul de l'Intensité Ultrasonore	90

II. 3. 4. Extraction conventionnelle «EC»	90
II. 3. 5. Teneur en polyphénols totaux	90
II. 3. 6. Analyse HPLC	91
II. 4. EXTRACTION DES CAROTENOÏDES	92
II. 4. 1. Extraction assistée par Ultrasons «EUS»	92
II. 4. 2. Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons «EUS»	93
II. 4. 3. Extraction Conventionnelle (EC)	94
II. 4. 4. Influence du solvant d'extraction	94
II. 4. 5. Quantification des caroténoïdes	94
II. 5. EXTRACTION DES PECTINES	95
II. 5. 1. Extraction Assistée par Micro-ondes (EAM)	95
II. 5. 2. Extraction Conventionnelle (EC)	95
PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS	58
III.1. EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE	98
III.1.1. Etude des cinétiques d'extraction	98
III.1.2. Influence du débit de vapeur d'eau et de la puissance de chauffe par micro-ondes sur le rendement en huile essentielle	104
III.2. EXTRACTION DES POLYPHENOLS	109
III.2.1. Résultats du plan d'expériences	109
III.2.2. Comparaison entre l'extraction assistée par ultrasons (EUS) et l'extraction conventionnelle (EC)	116
III.3. EXTRACTION DES PECTINES	119
III.4. EXTRACTION DES CAROTENOÏDES	121
III.4.1. Etude paramétrique	121
III.4.2. Etude par plan d'expériences	123
III.4.3. Comparaison entre l'extraction assistée par ultrasons (EUS) et l'extraction conventionnelle (EC)	130
III.4.4. Influence du solvant d'extraction	132
III.5. BILAN DE LA BIO-RAFFINERIE DES ECORCES D'ORANGE	133
CONCLUSION GENERALE	136
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	139
ANNEXES	151

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Compositions chimiques de certaines huiles essentielles d'agrumes.....	30
Tableau II : Exemples de quelques solvants usuels [99].....	44
Tableau III : Affections liées à l'utilisation de solvants pétrochimiques	45
Tableau IV : Extraction assistée par micro-ondes d'antioxydants	65
Tableau V: Constantes de vitesse pour les différents procédés étudiés	104
Tableau VI : Résultats du plan d'expériences pour l'extraction des polyphénols	110
Tableau VII : Analyse de la variance	111
Tableau VIII: Valeurs expérimentales et calculées du rendement en polyphénols totaux	114
Tableau IX : Conditions opératoires optimales expérimentales et calculées à partir du modèle mathématique.....	115
Tableau X : Rendements et durées d'extraction des pectines pour l'extraction assistée par micro-ondes (EAM), et l'extraction conventionnelle (EC)	119
Tableau XI: Résultats du plan d'expériences pour l'extraction des caroténoïdes.....	124
Tableau XII : Valeurs expérimentales et calculées du rendement en caroténoïdes.....	128
Tableau XIII : Conditions opératoires optimales expérimentales et calculées à partir du modèle mathématique.....	129
Tableau XIV : Bilan de la Bio-Raffinerie de 100 kg d'oranges.....	134

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure du fruit.....	25
Figure 2 : Classification des polyphénols	31
Figure 3 : Squelette de base des flavonoïdes	32
Figure 4 : Structures chimiques de certains flavonols.....	33
Figure 5 : Structure chimique de la (+)-catéchine.....	33
Figure 6 : Structure chimique de la (-)-épi-catéchine.....	34
Figure 7 : Structure chimique de la malvidine	34
Figure 8 : Structure chimique de la cyanidine.....	34
Figure 9 : Structure chimique de quelques flavanones	35
Figure 10 : Structure du trans- β -carotène [57]	38
Figure 11 : Structure de la pectine	40
Figure 12 : Spectre des fréquences électromagnétiques.....	60
Figure 13 : Mécanisme du chauffage micro-ondes (Seguin and Villeneuve).62	
Figure 14 : Spectre électromagnétique des ultrasons	68
Figure 15 : Transmission de l'onde ultrasonore [131]	70
Figure 16: Croissance et implosion d'une bulle de cavitation	71
Figure 17 : Représentation du plan composite centré en trois dimensions	79
Figure 18 : Protocole de traitement des écorces d'orange selon le concept de BIO-RAFFINERIE	83
Figure 19 : Dispositif de l'Extraction par Entraînement à la Vapeur d'Eau ..	85
Figure 20 : Dispositif de l'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes	86
Figure 21 : Dispositif de l'Extraction par Hydro-diffusion assistée	87
Figure 22 : Dispositif de l'Extraction assistée par Ultrasons des polyphénols	89
Figure 23 : Dispositif de l'Extraction assistée par Ultrasons des caroténoïdes	93
Figure 24 : Evolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps	100
Figure 25 : Evolution de $-\ln\left[1 - \frac{R_{HE}}{R_{HE\infty}}\right]$ en fonction du temps	103
Figure 26 : Influence du débit de vapeur d'eau sur l'extraction par «EV» ..	105
Figure 27 : Influence de la puissance micro-ondes sur l'extraction par «MHG».....	106
Figure 28 : Influence de la puissance micro-ondes sur l'extraction par «SFME»	107
Figure 29 : Evolution de la durée d'extraction par SFME en fonction.....	108
Figure 30 : Diagramme de Pareto pour l'extraction des polyphénols.....	111
Figure 31: Effets simples de la température et de l'intensité ultrasonore	112

Figure 32 : Effets d'interactions Température-Intensité ultrasonore	113
Figure 33: Surface de réponse du couple Température - Intensité Ultrasonore	116
Figure 34 : Comparaison des cinétiques d'extraction assistée par ultrasons et conventionnelle des polyphénols	117
Figure 35 : Influence de l'intensité ultrasonore sur la concentration en caroténoïdes.....	121
Figure 36 : Influence du ratio Solide/Solvant sur la concentration en caroténoïdes.....	123
Figure 37 : Diagramme de Pareto pour l'extraction des caroténoïdes	125
Figure 38 : Effets simples de la température, de l'intensité ultrasonore,	126
Figure 39 : Effets d'interactions	126
Figure 40 : Surfaces de réponses pour l'extraction des caroténoïdes	130
Figure 41 : Comparaison des cinétiques d'extraction par ultrasons et conventionnelle des caroténoïdes.....	131
Figure 42 : Influence du solvant sur l'extraction par EUS et EC des caroténoïdes.....	132

LISTE DES ABREVIATIONS

ADEME : l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AFNOR : Association française de normalisation

AG : Acide Gallique

ANOVA : Analyse de la Variance

ASE : Accelerated solvent extraction

BHA : Butyl Hydroxyanisole

BHT : Butyl Hydroxytoluène

C Caroténoïdes : Concentration en caroténoïdes (mg β -carotène/ g MV)

CAMD : Compressed Air Microwave Distillation

CCD : Central composite design (Plan composite centré)

COV : Composés Organiques Volatils

D : Diamètre du réacteur à ultrasons (mm)

DE : Degrés d'estérification

DM : Degré de méthylation

EAM : Extraction assistée par micro-ondes

EC : Extraction conventionnelle

EINECS : European Inventory of Existing Commercial Substance

ELINCS : European List of Notified Chemicals Substances

EUS : Extraction assistée par ultrasons

EV : Entraînement à la vapeur d'eau

EVMO : Entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes

H : Taux d'humidité (%)

HD : Hydro-distillation

HE : Huile essentielle

HM : Hautement Méthylées

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

IU : Intensité ultrasonore ($W \cdot cm^{-2}$)

K_E : Constante de vitesse (min^{-1})

LDL : Lipoprotéines à faible densité

LM : Faiblement méthylées

MAE : Microwave Assisted Extraction

MAHD : Microwave Assisted Hydrodistillation

M_H : Masse humide de matière végétale (g)

M_{HE} : Masse d'huile essentielle (g)

MHG : Hydro diffusion assistée par micro-ondes et gravité

M_P : Masse de pectine (g)

M_S : Matière sèche de matière végétale (g)

MSDf : Microwave Steam Diffusion

MV : Matière végétale

P : Puissance (W)

PMF : Flavones polyméthoxylés

PZT : Titanate Zirconate de Plomb

R² : Coefficient de détermination

REACH : Registration, Evaluation and Autorisation of CHemicals

R_{HE} : Rendement en huile essentielle (%)

R_P : Rendement en pectine (%)

SFE : Solvent Free Extraction

SFME : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

T : Température (°C)

t : Temps (min)

VHF : Very High Frequency

VMHD : Vacuum Microwave Hydrodistillation

Y_{PPT} : Rendement en polyphénols totaux (mg AG/ g MV)

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les quantités mondiales de déchets sont en ascension effrénée parallèlement à la naissance d'une société de consommation de plus en plus productrice de déchets. Outre les déchets industriels, ceux issus des activités agroalimentaires sont aussi en croissance continue, accentuée par les variétés de produits alimentaires présentées aux consommateurs. Parmi eux, nous pouvons compter le secteur de la transformation des fruits qui génère des millions de tonnes de sous-produits.

Les sous-produits résultant de la transformation des agrumes représentent environ 50% de leur poids. Ils sont composés essentiellement d'écorces, de pulpe et de pépins. De par leurs compositions, ils représentent une source de matière grasse (acides oléique, linoléique, linoléique, palmitique, stéarique, de la glycérine, et des phytostérols), des sucres (glucose, fructose, saccharose), d'acides (en particulier l'acide citrique et l'acide malique, tartrique, mais aussi, l'acide benzoïque, l'acide oxalique et succinique), de glucides insolubles (cellulose, pectine), d'enzymes (pectine-estérase, phosphatase, peroxydase), des flavonoïdes (hespéridine, narirutine), d'huile essentielle (d-limonène), et de pigments (caroténoïdes, xanthophylles). De manière générale, ces sous-produits sont destinés à un usage comme engrais, au compostage, à l'alimentation animale et à la méthanisation, ou bien rejetés tels quels dans la nature, ce qui représente d'une part une pollution de l'environnement, et d'autre part une perte de composés à haute valeur ajoutée.

La conversion de ces composés d'origine biologique en nouveaux produits, offre diverses utilisations dans l'industrie agroalimentaire comme ingrédients aromatisants, additifs alimentaires, conservateurs, comme anti-inflammatoires et antibactériens dans les industries pharmaceutiques, comme parfums, antioxydants ou conservateurs dans les industries parapharmaceutiques et cosmétiques.

Avec le développement du concept de "*Chimie Verte*" au cours de ces dernières années, les techniques respectueuses de l'environnement sont de plus en plus attractives. Aussi, les recherches se sont orientées vers la mise au point de procédés d'extraction de plus en plus performants et plus respectueux de l'environnement.

C'est dans cette optique que nous nous sommes proposés d'entreprendre une étude sur la valorisation des sous-produits de l'industrie des agrumes. L'objectif de notre travail est double : d'une part la récupération de produits à haute valeur ajoutée, et

d'autre part la préservation de l'environnement de la pollution que peuvent générer ces sous-produits s'ils ne sont pas traités.

Pour réaliser notre étude, un concept original de bio-raffinerie a été développé pour l'extraction de bio-composés à haute valeur ajoutée à partir des sous-produits d'agrumes, plus particulièrement les sous-produits d'orange, en intégrant d'une part des procédés d'extraction verts tels que les micro-ondes et les ultrasons, et d'autre part des solvants verts provenant de l'orange tels que l'eau interstitielle et le d-limonène.

Cette thèse est structurée en trois parties.

- ❖ La première partie est une synthèse bibliographique présentée en quatre chapitres. Le premier est relatif à des généralités sur : l'industrie agroalimentaire en Algérie, le concept de bio raffinerie, les agrumes, les composés bioactifs et les solvants utilisés pour leur extraction. Dans le second chapitre un état de l'art des procédés d'extraction conventionnels et innovants est développé. Des notions sur les micro-ondes et les ultrasons seront présentées dans le troisième chapitre, et enfin un aperçu sur la méthodologie des plans d'expériences fera l'objet du dernier chapitre.
- ❖ La seconde partie présente le matériel ainsi que les procédures expérimentales mises en œuvre pour réaliser notre travail.
- ❖ Les résultats obtenus ainsi que leur discussion feront l'objet de la dernière partie.

Nous terminerons par une conclusion et des perspectives.

PARTIE I :

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette partie constitue une synthèse bibliographique présentée en quatre chapitres.

- Le premier est consacré à un état des lieux de l'industrie agroalimentaire en Algérie, les déchets qu'elle génère, le concept de bio-raffinerie, les agrumes, les composés bioactifs et les solvants utilisés pour leur extraction.
- Le second chapitre traite des procédés d'extractions usités dans l'extraction des composés bio-actifs d'origine végétale.
- Le troisième chapitre portera sur des notions sur les micro-ondes et les ultrasons ainsi que leurs applications.
- La méthodologie des plans d'expériences sera développée dans le dernier chapitre.

CHAPITRE I : GENERALITES

CHAPITRE I : GENERALITES

Dans ce chapitre, nous allons dans un premier temps, donner un aperçu sur l'industrie agroalimentaire en Algérie ainsi que les déchets qu'elle génère. Par la suite des définitions du concept de bio-raffinerie, des agrumes, des composés bioactifs et des solvants utilisés pour leur extraction seront développées.

I.1. L'INDUSTRIE AGROALIMENTAIRE

L'agro-industrie est un concept à base technique qui englobe les secteurs de transformation de matières premières d'origine agricole, au sens large. Il comporte plusieurs filières de fabrication, fortement hétérogènes dont certaines, de loin les plus importantes, concernent les produits alimentaires.

L'agro-alimentaire est le concept qui s'applique aux filières qui concernent les produits alimentaires dont les plus importantes en Algérie restent les filières des céréales, des fruits et légumes, du lait et produits laitiers, des boissons, des viandes, des conserves, des huiles et oléagineux et du sucre.

Les Industries agro-alimentaires en Algérie ont connu leur essor dans les années 70 avec les programmes de développement notamment par la création d'un parc de sociétés nationales pour les principales filières.

Le développement du secteur agricole et agroalimentaire est un enjeu majeur pour l'Algérie aux niveaux économique, politique et social. Sur le plan intérieur, il emploie actuellement 1,6 millions de personnes, soit 23% de la population active ; il s'agit de la deuxième industrie du pays, après celle de l'énergie. Les ménages algériens consacrent en moyenne 45% de leurs dépenses à l'alimentation. En amont des industries agroalimentaires, on recense en Algérie plus d'un million d'exploitations agricoles couvrant plus de 8,5 millions d'hectares de terres arables, exploitées par l'arboriculture (41%), les cultures maraîchères (26%), et les grandes cultures (33%).

Comme toute industrie, l'industrie agroalimentaire génère des déchets qui se chiffrent en milliers de tonne chaque année. Les déchets organiques des industries agroalimentaires désignant l'ensemble des déchets générés par les industries agroalimentaires de transformation et de conditionnement de produits alimentaires animaux ou végétaux présentent une grande diversité : lactosérum, marcs d'olive, vinasses, déchets de légumes en conserverie, déchets de la viande, sang, os et autres [1]. Ils comprennent :

- ✚ Des produits animaux issus de la viande (rouge et blanche), du poisson et du lait,
- ✚ Des produits végétaux issus des filières avicoles et viticoles (marc) et de la transformation des fruits, légumes, céréales et oléagineux,
- ✚ Des déchets de matières premières végétales ou animales des chutes de produits élaborés ou des produits déclassés (pâtes, fromages),
- ✚ Des boues issues du traitement des effluents.

La gestion de ces déchets est devenue un des enjeux majeurs des décennies à venir. Il ne s'agit plus désormais de se débarrasser des déchets, mais plutôt d'essayer d'en dégager une valeur ajoutée et utilitaire, notamment dans les conditions actuelles de rarefaction des ressources naturelles et matières premières. La solution optimale pour l'utilisation de ces déchets serait donc leur valorisation.

I.2. LA BIORAFFINERIE DU VEGETAL

La bio-raffinerie du végétal vise la production de molécules de tout type en partant de biomasse végétale (produits agricoles et sylvicoles, déchets, résidus végétaux), et ce en intégrant le recyclage des déchets et sous-produits avec une empreinte écologique par opposition aux ressources fossiles (pétrole, charbon).

Il existe différentes définitions de la bio-raffinerie. Jens Borne la définit comme un système intégré de procédés indépendants qui convertit l'ensemble des matières premières renouvelables, de la façon la plus efficace, en une gamme de produits à valeur ajoutée, avec un minimum de besoins énergétiques externes et pratiquement aucun déchet ni émission [2].

J. Sanders la définit comme la transformation de la biomasse en un ensemble de produits commercialisables et en énergie [2].

W. Soetert, définit les bio-industries comme des industries mettant en œuvre différentes technologies pour fabriquer des produits chimiques, des biocarburants, des produits alimentaires pour l'Homme, les animaux, des biomatériaux et de l'énergie à partir de matières premières de la biomasse [2].

On distingue différents types de bio-raffineries en fonction des matières premières qu'elles valorisent et des procédés qu'elles utilisent : bio-raffineries de céréales, d'oléagineux, de matières ligno-cellulosiques et la bio-raffinerie « verte ». Les bio-raffineries peuvent également être classées en fonction des produits qui résultent de la transformation, tel que le biogaz de synthèse [3].

I.3. LES AGRUMES

Le terme agrume, objet de notre travail provient de la forme latine '*kedros*' désignant des arbres tels que le cèdre, le pin et le cyprès. Cette appellation est due à

l'odeur caractéristique des feuilles et fruits d'agrumes qui rappelle celle du cèdre. Dans le présent chapitre, nous allons présenter quelques généralités sur les agrumes.

I.3.1. Origine et histoire des agrumes

L'origine géographique exacte des agrumes n'est pas clairement identifiée, bien que la plupart des chercheurs la situe dans le sud-est asiatique, au moins 4000 ans avant Jésus-Christ. Il existe plusieurs légendes relatives à l'origine des agrumes. Le déplacement de ceux-ci depuis l'Asie jusqu'en Europe s'est fait de manière lente. Ils ont été, tout d'abord, importés en Afrique du Nord, puis probablement sous l'effet de la chute de l'Empire romain, sont arrivés dans le sud de l'Europe où ils ont prospéré pendant le Moyen-âge. Les agrumes sont parvenus sur le continent américain par le biais des espagnols (Ch. Colomb emporta des graines avec lui durant son second voyage) et aux portugais au cours de leurs différents voyages de découverte du Nouveau Monde aux environs de 1500 après Jésus-Christ.

Le premier citrus connu en Europe, bien que n'ayant plus aujourd'hui d'importance économique, est le cédratier. Probablement originaire d'Inde, il est introduit au IV^{ème} Siècle avant J.C. par Alexandre le Grand et cultivé par les sumériens et les égyptiens. Il a été ensuite diffusé sur le pourtour méditerranéen au début de l'ère chrétienne. Vers le III^{ème} siècle après J.C., on le trouvait déjà à Rome et au début du VII^{ème} siècle les premières plantations sont identifiées en Espagne [4].

Le commerce international des agrumes frais a débuté il y a deux siècles environ par opposition au commerce international du jus d'orange qui lui n'a débuté qu'au cours des années 1940, avec la fin de la seconde guerre mondiale, et l'invention et le développement des techniques de transformation. L'industrie brésilienne des agrumes a commencé à jouer un rôle clé dans l'économie à partir des années 1930 à la suite de la crise caféière. La croissance de l'industrie des agrumes dans ce pays a été particulièrement importante au cours de la décennie 1960. Sous l'influence des gelées qui ont détruit une partie importante des terres agricoles américaines consacrées à la culture des agrumes, le Brésil est devenu une zone de production alternative, ce qui a eu pour conséquence d'entraîner une augmentation de la production brésilienne afin de continuer à satisfaire les demandes nord-américaine et européenne [5].

Au cours des années 1980, le Brésil est devenu le plus important producteur d'agrumes au monde et le premier et presque l'unique pays exportateur [6].

L'introduction de l'oranger en Algérie est ancienne sans qu'il soit possible de la dater avec précision mais le développement des plantations caractérise essentiellement l'époque coloniale. Au moment de l'arrivée des français, Blida était déjà célèbre pour ses « orangeries ». Le recensement algérien de 1852 dénombrait 170 hectares d'orangers avec 22330 arbres. Le verger algérien est, alors, pour une bonne part composé par des mandariniers dont l'espèce a été introduite en 1850. Au début du

siècle dernier le clémentinier, une nouvelle espèce qui connaîtra le succès, est découverte et mise au point en 1902 à Misserghin près d'Oran.

I.3.2. La production d'agrumes

La production d'agrumes est très répandue dans le monde, avec plus de 140 pays producteurs atteignant ainsi plus de **115525,2** de tonnes au cours de l'année 2012. Les oranges constituent la majeure partie de la production d'agrumes (61%), suivies par les mandarines (22%), les citrons et limes (11%), et les pamplemousses (5%). La majeure partie de la production est concentrée au Brésil (20%), les pays méditerranéens (20%), la Chine (16%) et les USA (11%) [7]. Ces zones représentent environ les deux tiers de la production totale d'agrumes.

I.3.3. Les pays méditerranéens

Dans la région méditerranéenne, les agrumes sont principalement produits pour le marché des fruits frais. L'Espagne est le principal producteur de la région avec une superficie de 305000 ha et une production d'environ 6 millions de tonnes. Cette région produit quelques-unes des plus belles mandarines, oranges et citrons dans le monde. Les plus importants pays producteurs d'agrumes sont l'Espagne, le Portugal, l'Italie, le Maroc, la Grèce, Israël, la Turquie, la Tunisie, l'Algérie, Chypre et le Liban. Le climat y est en général sec en été et humide en hiver. Les zones côtières sont également humides en été. Cette région est réputée pour l'excellente qualité de ses oranges sanguine. Les Oranges à chair jaune y sont aussi cultivées et sont appelées Blanca en Espagne ou Blond en Italie. La récolte des variétés précoces commencent en Octobre et en Novembre [8].

Les variétés d'oranges cultivées en Algérie sont la *Hamlin*, la *Cadenera*, la *Maltaise Sanguine*, la *Thompson navel*, et la *Washington navel*. Les *Hamlin* cultivées en Algérie de couleur rouge orangé et à la peau rugueuse, possèdent une quantité de jus relativement faible par rapport aux fruits cultivés dans le climat humide de la Floride. Les Clémentines algérienne mûrissent tardivement (Novembre-Février) [9].

I.3.4. Taxonomie et diversité génétique : Classification botanique

Le terme d'agrumes correspond à 3 genres botaniques :

- *Citrus*
- *Fortunella*
- *Poncirus*

Ils appartiennent, avec huit autres genres dont *Eremocitrus*, *Microcitrus*, *Clymenia*, *Citropsis* et *Severinia*, à la sous tribu des *Citrinae*, tribu des *Citreae*, sous famille des *Auranrioideae*, famille des *Rutacéae*. Ordre des *Géraniales* [10].

Le genre *Citrus* comprend la plupart des agrumes cultivés pour leurs fruits. La quantité de mutations spontanées et des hybrides naturels ou artificiels de ce genre

est à l'origine de l'existence d'un très grand nombre de variétés. Deux classifications du genre prévalent. Celle de TANAKA [11] qui identifie 156 espèces, tandis que celle de SWINGLE n'en distingue que 16. Selon cette dernière classification, les huit espèces cultivées sont : *C. sinensis* (L.) Osb., l'oranger, *C. aurantium* L., le bigaradier, *C. reticulata* Blanco, le mandarinier, *C. paradisi* Macf., le pomelo, *C. grandis* (L.) Osb., le pamplemoussier, *C. limon* (L.) Burm. F., le citronnier, *C. aurantifolia* (Christm.) Swing., le limettier, et *C. medica* L., le cédratier [12].

I.3.5. Caractères généraux des agrumes

a) L'arbre

Les agrumes craignent le froid; il leur faut des moyennes annuelles de température de 14 °C (l'hiver 10 °C, l'été 22 °C au moins), sans que le minimum absolu puisse descendre au-dessous de 0 °C. Cela explique que la limite de la culture des agrumes ne dépasse pas 41° à 43° de latitude dans l'Hémisphère Nord et 38° à 40° de latitude dans l'Hémisphère Sud. La culture des agrumes est une culture délicate car les *Citrus* craignent les vents, surtout les vents chauds et secs [4].

Ce sont de petits arbres, ou arbustes plus ou moins épineux de 5 à 10 m de haut, caractérisés par un feuillage persistant ordinairement de couleur vert foncé, brillant. Leurs fleurs, relativement petites et blanches, d'odeur suave, sont produites en très grande abondance. Les fruits sont vivement colorés en orange, rouge ou jaune [8].

b) Le fruit

Le genre *Citrus* contient deux espèces d'orange. La première, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, correspond aux oranges douces, la deuxième, *Citrus aurantium* L., correspondant aux oranges amères. Ces dernières sont également appelées bigarades, elles sont peu comestibles et leur utilisation est principalement réservée à la production de marmelades ou d'huiles essentielles [13].

Les oranges douces (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) comprennent différentes variétés parmi lesquelles nous pouvons citer :

- ✚ **Les oranges Navel** : elles se caractérisent généralement par une petite excroissance secondaire intégrée à la manière d'un nombril sur la partie supérieure du fruit.
- ✚ **Les oranges communes** : elles comprennent la plupart des variétés anciennes cultivées dans des pays différents. Certains cultivars connus sont : «Cadenera» d'Espagne, «Biondo comune» d'Italie, «Pera» du Brésil, ou «ananas» et «Valencia» des Etats-Unis.
- ✚ **Les oranges sanguines** : elles comprennent un colorant bleu, l'anthocyanine, dissout dans le jus. Ce colorant se développe uniquement lorsque la température baisse à moins de 13 degrés pendant quelques heures. Sont

comptées parmi les oranges sanguines, entre autres, la Moro, totalement sanguine, qui mûrit pour le mieux en Sicile et la Taroco, une semi sanguine et l'une des oranges sanguines les plus fines.

- ✚ **Oranges douces** : également appelée sucre ou oranges sucrées en raison de la faible acidité du jus. Deux cultivars sont connus : «Sucreia» ou «Imperial» et «Succari».

c) Structure du fruit

Les oranges sont le plus souvent rondes. La structure d'une orange représentée dans la Figure 1 comprend :

➤ Le péricarpe constitué de :

- une couche extérieure colorée : le flavedo,
- une couche intérieure blanche et spongieuse : l'albedo (ou mésocarpe).

➤ L'endocarpe ou épiderme interne constitué de :

- Une partie comestible divisée en segment radial contenant des cellules très juteuses formant des sacs à jus ou encore vésicules à jus. Les segments (ou quartiers) qui comprennent de nombreuses vésicules sont séparés par des parois carpellaires ou membranes constituées de cellulose, pectine et hémicelluloses. Les segments sont attachés à la partie centrale du fruit appelée columelle.

- Les pépins, situés à proximité de l'axe du fruit, sont riches en acides gras insaturés et sont source de limonoïdes qui ont des propriétés anticarcinogéniques et chimiopréventives.

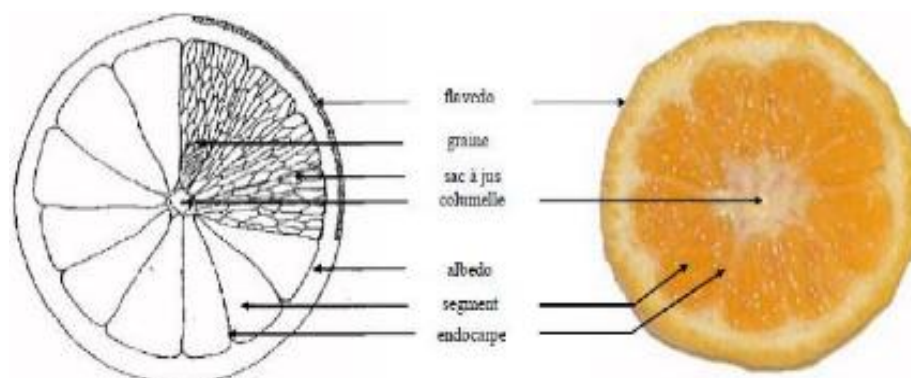


Figure 1 : Structure du fruit

I.3.6. Consommation

La consommation d'orange fraîche est en baisse dans les pays industrialisés. Aujourd'hui la transformation d'agrumes représente environ un tiers de la production totale d'agrumes. Plus de 80% de celui-ci rentre dans la transformation d'oranges, le plus souvent dans le processus de transformation en jus d'orange.

Les résidus issus de la transformation des agrumes représentent environ 50 % de leurs poids. Ces derniers sont composés essentiellement de peaux (flavedo et albédo), de pulpes et de graines. De par leurs compositions ils représentent une source de lipides (acides oléique, linoléique, linoléique, palmitique, acide stéarique, glycérine, et phytostérols), de sucres (glucose, fructose, saccharose), d'acides (principalement citrique et malique, tartrique, mais aussi, l'acide benzoïque, l'acide oxalique et succinique), de glucides insolubles (cellulose, pectine), d'enzymes (pectinestérase, phosphatase, peroxydase), de flavonoïdes (hespéridine, naringine), d'huiles essentielles (d-limonène) et de pigments (carotènes, xanthophylles) [14].

I.4. LES COMPOSES BIOACTIFS

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires. Ces derniers possèdent des propriétés biologiques ou des composés biologiquement actifs utilisés dans un but curatif ou préventif.

Dans ce chapitre, nous allons énoncer les différents composés bioactifs présents dans les agrumes, ainsi que leurs domaines d'utilisation.

I.4.1. LES HUILES ESSENTIELLES

Le terme «essence» est une contraction du terme original "quintessence". Cette situation découle de l'idée aristotélicienne disant que la matière est composée de quatre éléments, à savoir, le feu, l'air, la terre et l'eau. Le cinquième élément ou la quintessence, a ensuite été considéré comme l'esprit ou la force de vie de la plante. Cette croyance a donné naissance à une boisson appelée eau de vie en référence à la notion de retrait de la force de vie de la plante [15].

Aujourd'hui, bien sûr, nous savons que les huiles essentielles sont composées de mélanges complexes de produits chimiques.

I.4.1.1. Définitions

Le terme «Huile essentielle» est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une odeur forte et caractéristique. Elles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages [16].

La norme AFNOR NFT 75-006, de Février 1998 [17], a défini l'huile essentielle comme étant un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention.

I.4.1.2. Localisation

Les sites producteurs d'essence et des molécules odorantes sont rencontrés dans tous types d'organes : racine, tige, bois, écorce, feuille, fleur, fruit, rhizomes, graines, etc... La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante nous distinguons alors :

- ✚ Cellules à huiles essentielles des *Lauracées* (*Camphora officinarium*) ou des *Zingiberaceae* (*Zingiber officinale*),

- ✚ Poils sécréteurs des *Lamiacées* (*Mentha spicata*),
- ✚ Poches sécrétrices des *Myrtacées* (*Eucalyptus leucoxylon*) ou des *Rutacées* (*Citrus limon*),
- ✚ Canaux sécréteurs des *Apiacées* (*Daucus carota*) ou des *Astéracées* (*Anthemis tomentosa*).

Les diverses espèces du genre *Citrus* stockent les huiles essentielles, dans des poches schizolysigènes localisées dans la partie externe du mésocarpe du fruit (flavedo). Cette localisation particulière permet la récupération directe par «expression» [18].

1.4.1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatiles extraits à partir d'un grand nombre de plantes. Elles doivent répondre à des critères physiques imposés par les normes. En effet, elles sont liquides à température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité est inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques cas (cannelle, sassafras et vétiver), volatiles, insolubles dans l'eau, rarement colorées, et solubles dans les huiles végétales, dans l'éther et dans l'alcool jusqu'à un certain pourcentage. Elles sont peu polaires, et il convient de les conserver à l'abri de l'air et de la lumière [19].

1.4.1.4. Composition chimique des huiles essentielles

De manière générale, les huiles essentielles représentent une petite fraction de la composition de la plante (moins de 5% de la matière végétale sèche), et comprennent principalement des hydrocarbures terpéniques (des isoprènes) et des terpénoïdes. Les premiers composés sont des monoterpènes. Caractérisés par 10 atomes de carbone, ils représentent plus de 80 % de la composition des huiles essentielles. Ils peuvent présenter des structures d'hydrocarbures acycliques, ou en structures mono- bi- ou tricycliques.

Les seconds, également appelés isoprénoïdes sont des dérivés oxygénés d'hydrocarbures de terpènes tels que des aldéhydes, des alcools, des cétones, des acides, des phénols, des éthers, des esters [20]. Certaines huiles essentielles contiennent une autre classe de molécules oxygénées les phénylpropanoïdes et leurs dérivés. Ils se retrouvent dans des cas particuliers (Sassafras, écorce de cannelle, de vétiver, de clou de girofle) [21].

Notons que les terpènes représentent une très grande classe de la plupart des hydrocarbures naturels abondants et auxquels on attribue diverses fonctions [22].

La composition chimique des huiles essentielles d'agrumes varient en fonction de la variété, la saison et l'origine géographique du fruit [23-25]. Environ 85 à 99 % de la

composition de ces huiles sont des composés volatiles. Ces dernières sont une mixture d'hydrocarbures terpéniques qui comptent en moyenne pour 97 % de leurs composition totale, et dont le plus abondant est le d-limonène (variant de 32 à 98 % selon les espèces), suivi par le myrcène, le sabinène et l' α -pinène ; des sesquiterpènes et des sesquiterpenoides tels que des aldéhydes (citral), des cétones, des acides, des alcools (linalool) et des esters qui représentent quant à eux entre 1,8 et 2,2 %. Les essences obtenues par expression à froid renferment également des constituants non volatiles tels que les coumarines.

Le Tableau I référence les compositions chimiques de différentes variétés d'huiles essentielles d'agrumes.

1.4.1.5. Propriétés des huiles essentielles d'agrumes

Les huiles essentielles extraites à partir des agrumes ont fait l'objet de nombreuses études. Zahi et al., ont développé un nouveau système de distribution d'agents antimicrobiens en encapsulant le d-limonène dans une nano-émulsion à base de gel organique et étudié son activité antimicrobienne. Les résultats ont montré que l'encapsulation du d-limonène a contribué à l'augmentation de son activité antimicrobienne ce qui donne naissance à la conception de systèmes antimicrobiens plus efficaces pour la conservation et la production des aliments [26].

Espina et al. . [27], ont étudié la composition chimique de trois huiles essentielles d'agrumes commerciales d'Espagne (orange (*Citrus sinensis*), citron et mandarine (*Citrus reticulata*)), et leur activité antimicrobienne contre les micro-organismes pathogènes, ainsi que leurs effets létaux et synergiques en combinaison avec une chaleur modérée. Les résultats obtenus ont indiqué que les huiles essentielles de citron et d'orange présentaient les plus importants effets antimicrobiens.

AL-Jabri et al. . [28], ont isolé l'huile essentielle de deux espèces de citrons afin d'évaluer son activité antimicrobienne contre quatre souches de bactéries pathogènes à savoir *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Proteus vulgaris* en utilisant la méthode de diffusion des disques. Pratiquement toutes les souches bactériennes ne présentent aucune sensibilité vis à vis des huiles essentielles testées.

Tableau I: Compositions chimiques de certaines huiles essentielles d'agrumes

Variété d'agrumes	Composition	Référence
<i>Citrus sinensis</i>	Limonène : 85,5 % β-pinène : 1,57 % Nonanal : 0,58 %	[27]
<i>Citrus sinensis</i> (Valencia)	Limonène : 86,80 % Myrcène : 4,30 % α-pinène : 1,40 %	[29]
<i>Citrus sinensis</i> (Blood Orange)	Limonène : 63,14 % p-cymène : 11,62 % valencène : 5,12 %	[30]
<i>Citrus sinensis</i> (Sweet Orange)	Limonène : 88,19 % Sabinène : 6,37 % p-cymène : 2,36 %	[30]
<i>Citrus sinensis</i>	Limonène : 96,1 % Sabinène : 0,71 % Myrcène : 2,12 %	[31]

I.4.2. LES POLYPHENOLS

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols d'origine végétale qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires, en particulier les flavonoïdes et les pro-anthocyanidines [32].

I.4.2.1 Définitions

Les polyphénols sont des composés phénolique hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines [33, 34]. Ils constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal et sont caractérisés, comme leur nom l'indique, par la présence de plusieurs groupements phénoliques, avec ou sans autres fonctions et comportent au moins 8000 structures différentes connues [35], allant de molécules

phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (Fig 2). On distingue :

- ✚ Les acides phénoliques de type benzoïques ou cinnamiques
- ✚ Les flavonoïdes (Flavanols, Flavonoïdes, Chalcones et dihydrochalcones, anthocyanidines et tanins condensés) ;
- ✚ Les stilbènes ;
- ✚ Les lignines et subérines.

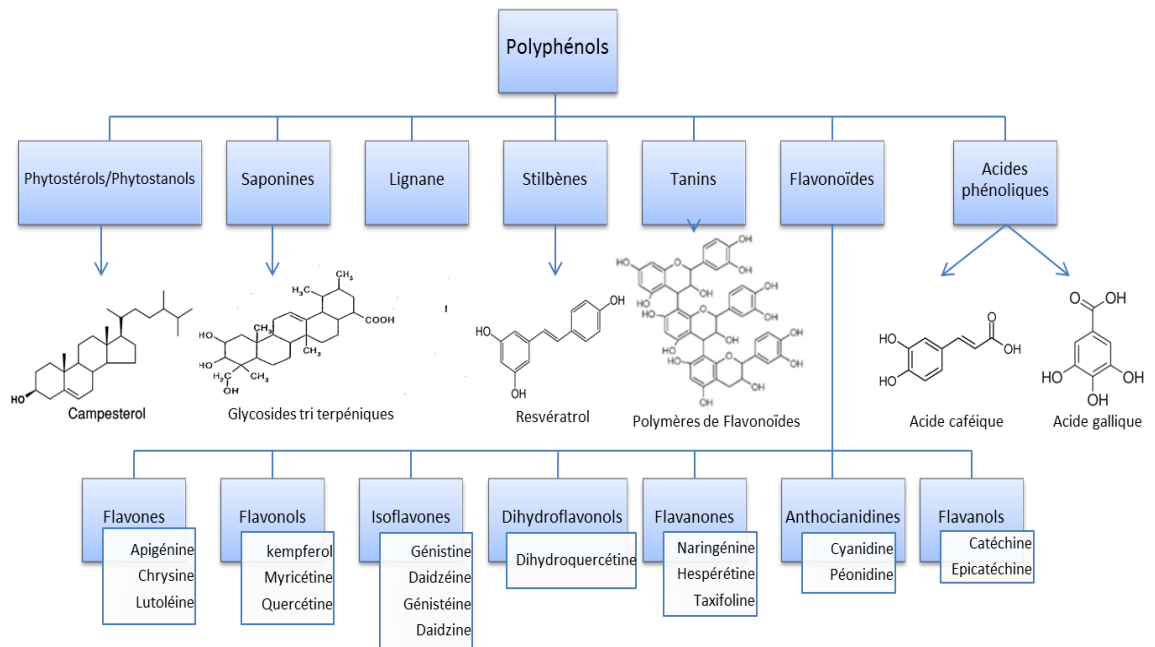


Figure 2 : Classification des polyphénols

1.4.2.2. Les polyphénols dans les agrumes

Les principaux composés phénoliques retrouvés dans les agrumes sont les flavonoïdes. Ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires [36]. Leur structure est représentée par un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Fig. 3) [37].

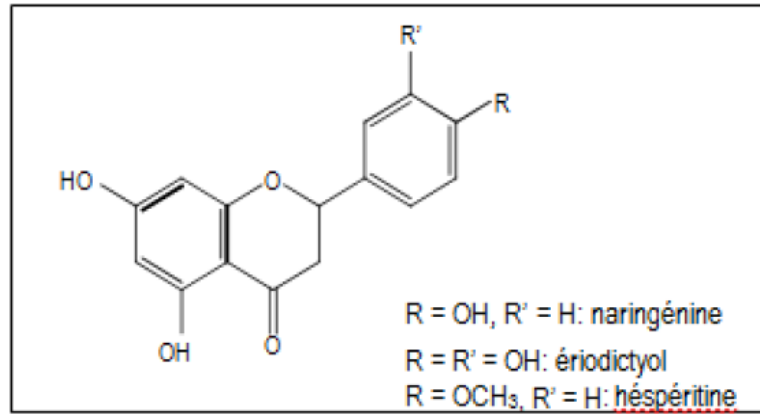


Figure 3 : Squelette de base des flavonoïdes

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, parmi lesquelles nous pouvons citer les principales : les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines.

La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides [38].

➤ Les flavonols

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3 (Fig. 4). Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose et L-rhamnose. Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la rutine. On les retrouve dans des fruits tels que les fraises et les pommes et dans des légumes tels que le chou, les oignons et les épinards. Ils sont également largement présents dans le thé à hauteur de 45 mg.L⁻¹ [39].

Les flavonols ont la capacité de stimuler la synthèse des cellules angiogéniques du sang, celles qui participent à maintenir les vaisseaux en bonne santé et à assurer leur régénération. De plus, ils sont d'excellents antioxydants et ils jouent un rôle anti-inflammatoire.

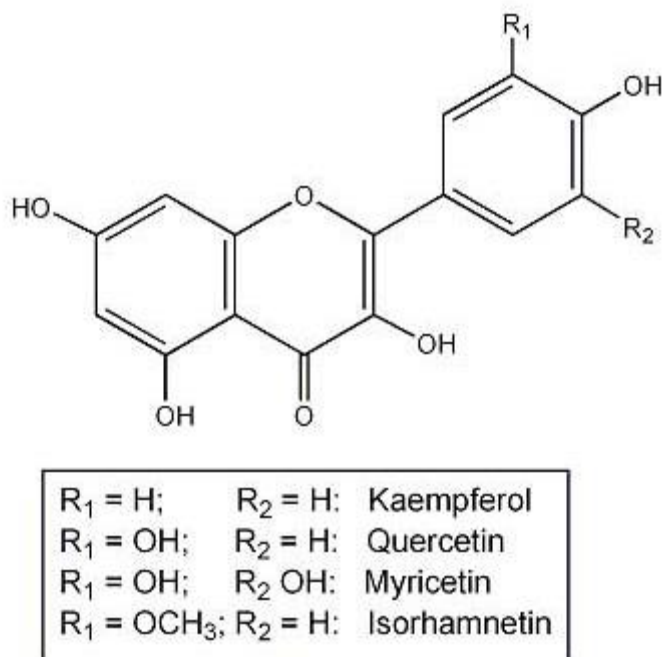


Figure 4 : Structures chimiques de certains flavonols.

➤ **Les Flavan-3-ols**

Les flavan-3-ols ou dérivés de la catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Dans la nature, les isomères les plus fréquents sont la (+)-catéchine (Fig. 5) et la (-)-épi-catéchine (Fig. 6).

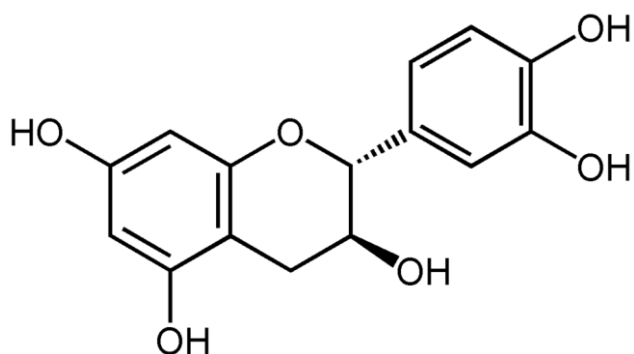


Figure 5 : Structure chimique de la (+)-catéchine

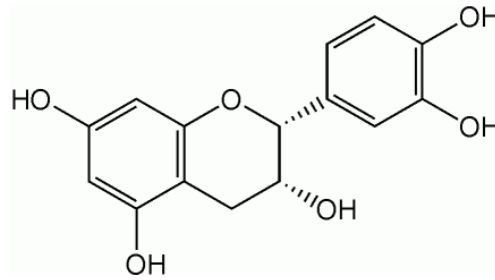


Figure 6 : Structure chimique de la (-)-épi-catéchine

Les flavan-3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallo-catéchines (épi-catéchine gallate, épi-gallo-catéchine, épi-gallo-catéchine gallate). Les catéchines sont retrouvées dans le chocolat, le thé noir ainsi que dans certains fruits tels que les abricots [38, 40].

➤ **Les anthocyanidines**

Les anthocyanidines sont des pigments hydrosolubles présents sous forme de douze structures différentes. Elles diffèrent par la distribution des groupements hydroxyles ou méthoxy sur le second noyau, ce qui détermine leurs types de coloration. Selon la règle générale, l'hydroxylation augmente la coloration bleue du pigment, tandis que l'addition de groupements méthoxy augmente la coloration rouge [41].

Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (Fig. 7, 8) [42]. Ils sont présents dans le vin rouge (340 - 420 mg de malvidine 3-O-glucoside.L⁻¹) [43].

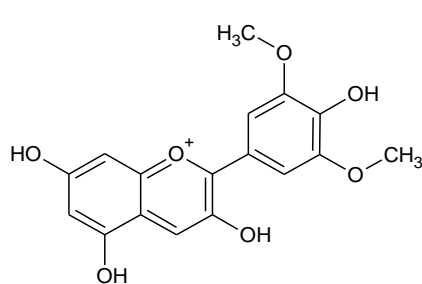


Figure 7 : Structure chimique de la malvidine

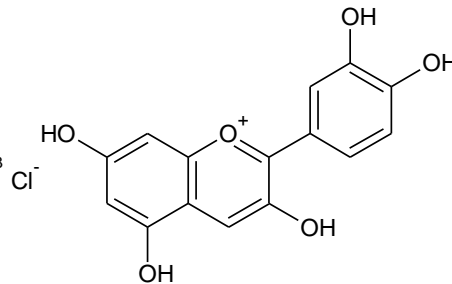


Figure 8 : Structure chimique de la cyanidine

➤ **Les flavanones**

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2. Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse, l'hésperitine et la naringénine dans l'orange (Fig. 9).

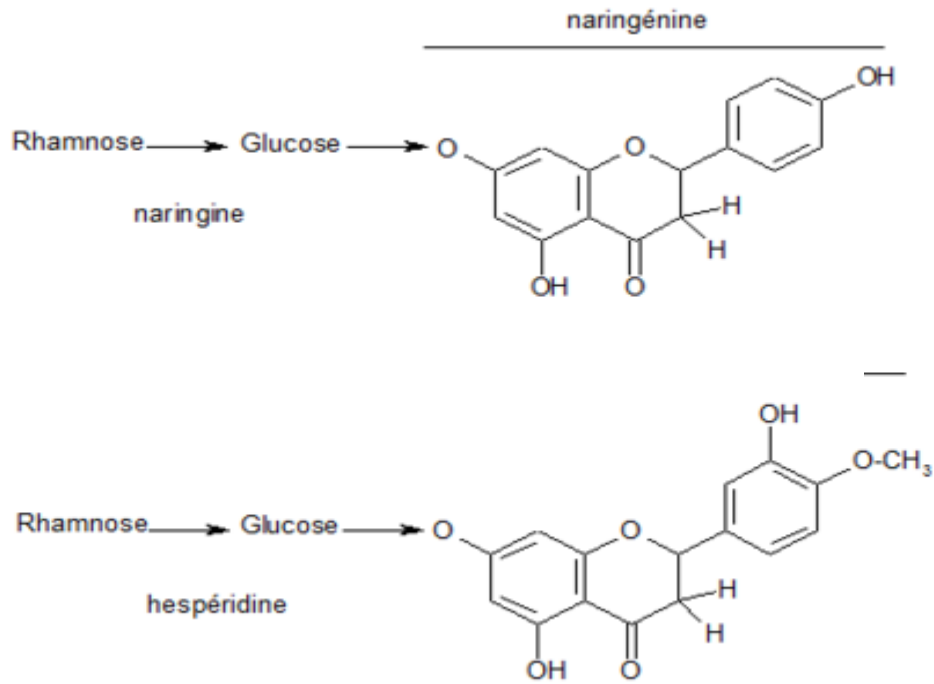


Figure 9 : Structure chimique de quelques flavanones

1.4.2.3. Rôle et intérêt des composés phénoliques

Les composés phénoliques ont plusieurs rôles aussi bien chez les végétaux que chez l'humain.

➤ **Chez les végétaux**

Produits du métabolisme secondaire des plantes, ce sont d'importants déterminants de la qualité sensorielle et nutritionnelle des fruits, légumes et autres plantes [44, 45]. Outre leurs qualités nutritionnelles pour l'être humain, le rôle principal des polyphénols est endogène à la plante. Ils contribuent à la :

- ✚ Défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phyto-pathogènes.
- ✚ Dissuasion alimentaire. On parle du phénomène d'allélopathie : certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance d'autres plantes.
- ✚ Attraction des pollinisateurs : les couleurs, mais aussi les odeurs attirent les insectes.
- ✚ Protections contre les rayonnements UV.

✚ Intervention dans certains aspects de la physiologie de la plante telles que la lignification, la régulation de la croissance, les interactions moléculaires avec certains micro-organismes symbiotiques ou parasites.

➤ **Chez les humains**

Les polyphénols présentent plusieurs propriétés, développées ci-dessous.

✚ **Propriétés anti-oxydantes**

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques. En effet, par la présence de groupements chimiques hydroxyles liés à leurs noyaux benzéniques (ou phénols), les polyphénols d'origine végétale offrent des propriétés anti-oxydantes essentielles [46].

Un apport adéquat en antioxydants est associé à une diminution de dommages oxydants sur l'ADN, les glucides et la peroxydation des acides gras polyinsaturés. Les dommages oxydatifs de ces molécules organiques sont considérés comme initiateurs de processus pathologiques comme le cancer associé à l'oxydation de l'ADN et les pathologies vasculaires associées à l'oxydation des lipoprotéines à faible densité ou LDL. Les approches expérimentales, animales et cellulaires, sur ces composés organiques ont permis d'émettre des hypothèses quant à l'implication potentielle de ces antioxydants, vectorisés par certains aliments sources, dans l'incidence de certains cancers, de maladies cardiovasculaires ou de pathologies dégénératives [47].

✚ **Propriétés anti cancérigène**

Les polyphénols d'agrumes sont considérés comme des médicaments tout à fait sûrs et non toxiques. Au moins 35 % de tous les cancers dans le monde sont causés par une mauvaise alimentation, et dans le cas du cancer du côlon, le régime alimentaire peut représenter 80 % des cas [48]. Les flavonoïdes d'agrumes agissent comme modulateurs de la tyrosine kinases, et sont particulièrement importants aujourd'hui en raison de leurs implications dans le traitement du cancer.

L'hespéridine présente dans différents jus d'agrumes a montré une activité anti-proliférative [49]. Hwang et al., ont étudié l'inhibition de la carcinogénèse orale par les flavonoïdes d'agrumes chez les hamsters, concluant que l'hespéretine, la néohespéretine, la tangéretine et la nobiletine étaient inefficaces, tandis que la naringine et la naringénine ont donné de bons résultats [50].

D'autre part, les flavonoïdes d'agrumes ont montré des activités anti-prolifératives relativement puissantes sur la croissance des cellules du cancer du foie humain en fonction de la dose administrée [49].

✚ Les maladies cardiaques et cardio-vasculaires coronariennes

Il existe des études cliniques sur l'effet des jus d'agrumes sur la tension artérielle comme traitement de l'hypertension. El-Shafae et al.,[51], ont signalé que l'hespéridine et la diosmine pourraient être efficaces pour le traitement de l'insuffisance veineuse chronique, les hémorroïdes chroniques et l'ulcère de jambe d'origine veineuse. Une mauvaise coagulation du sang, telle que la thrombose, est étroitement liée à l'athérosclérose dans le développement des maladies cardiovasculaires pour qui une bonne prévention pourrait réduire les épisodes cardiovasculaires mortels. L'utilisation des polyphénols d'agrumes pour empêcher ces entités cliniques constitue une réponse aux effets secondaires des agents traditionnellement utilisés dans ce but [49].

✚ Le métabolisme des lipides et de l'obésité

L'eriocitrine et l'hespéridine ont joué un rôle important avec des activités hypolipidémiantes in vivo chez des rats présentant un taux de cholestérol élevé. Récemment, d'autres études révèlent que les flavones polyméthoxylés (PMF) réduisent le taux de cholestérol plasmatique à des doses plus faibles que celles requises pour les flavanones telle que l'esperitine [49].

I.4.3. LES CAROTENOÏDES

Les caroténoïdes sont des pigments composés de deux ou plusieurs unités d'hydrocarbures. Ils sont synthétisés par tous les organismes photosynthétiques, certaines bactéries non photosynthétiques et les champignons. Les caroténoïdes sont constitués de huit unités isopréniques jointes entre elles d'une manière spécifique telle que leur organisation est inversée au centre de la molécule [52]. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou estérifiée avec des acides gras. Ces estérifications offrent aux caroténoïdes des propriétés en fonction du type d'acides auxquels ils sont liés. L'estérification est le mécanisme biologique naturel qui vise à protéger les triglycérides, les lipides insaturés, et d'autres composés sensibles à la lumière de la photo-oxydation [53]. Elle facilite le stockage des caroténoïdes, en aidant à l'intégration de ces molécules hautement lipophiles dans les lipides [54].

Les caroténoïdes peuvent être trouvés dans les feuilles vertes et les fruits, mais aussi dans beaucoup d'autres parties des plantes telles que les fleurs rouges, jaunes et oranges, les racines (comme les carottes et le manioc), et les graines (comme le maïs). Dans la nature, la majorité des caroténoïdes existent sous forme de l'isomère trans qui représente la configuration la plus stable.

1.4.3.1. Classification

En fonction de leurs structures chimiques, ils peuvent être divisés en :

✚ Carotènes acycliques formés par une chaîne carbonée linéaire tels que : le zéta-Carotène, le Phytoène, le Lycopène (rouge), le Neurosporène, et le Phytofluène.

✚ Carotènes cycliques contenant une ou deux structures cycliques, tels que : l' α -Carotène (orange), le β -Carotène (orange), le γ -Carotène (orange), le δ -Carotène, l' α -Zéacarotène, et le β -Zéacarotène.

✚ Hydroxy-caroténoïdes (ou caroténols) contenant au moins un groupe hydroxyle (xanthophylles) tels que : l' α -Cryptoxanthine (jaune), la β -Cryptoxanthine (orange), la Lutéine (jaune), la Lycophille, la Lycoxanthine, la Rubixanthine, la Zéaxanthine (jaune-orange), et la Zéinoxanthine.

✚ Epoxy-caroténoïdes contenant au moins un groupe époxy (xanthophylles) tels que : l'Anthéroxanthine, l'Auroxanthine, le β -Carotène-5,6-époxyde, la Lutéine-5,6-époxyde, la Lutéoxanthine, la Néoxanthine, et la Violaxanthine (jaune).

✚ Les apocaroténoïdes sont une autre classe de caroténoïdes contenant moins de 40 atomes de carbone, très répandus dans la nature et avec des structures extrêmement différentes. Les plus connus sont : la vitamine A, l'acide abscisic, la bixine, la crocétine, et le *trans*- β -apo-8'-caroténal.

Seuls 40 caroténoïdes sont présents dans un régime alimentaire typique de l'Homme, et environ 20 ont été identifiés dans le sang et les tissus humains [55]. Dans le sérum, six principaux caroténoïdes sont présents à des concentrations considérables : la β -cryptoxanthine, la lutéine, le lycopène, la zéaxanthine, le α -carotène et le β -carotène (Figure 10) [56]. Ce dernier est le caroténoïde le plus largement étudié, il fait partie des 50 caroténoïdes pouvant être métabolisés en vitamine A, car il possède la plus forte activité provitamine A [56].

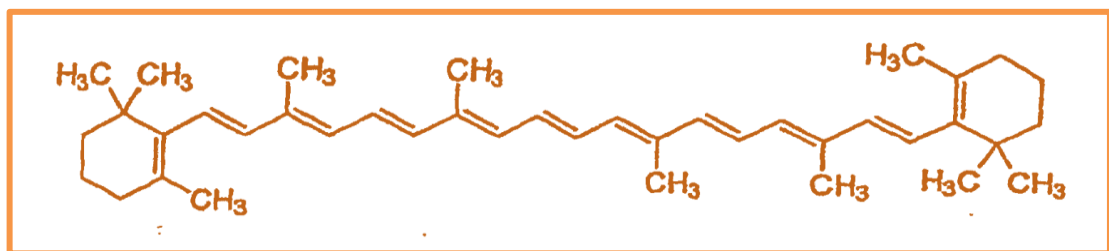


Figure 10: Structure du *trans*- β -carotène [57]

1.4.3.2. Propriétés des caroténoïdes

Les caroténoïdes possèdent pour la plupart dans leur structure chimique de très nombreuses doubles liaisons conjuguées qui sont responsables de leur activité anti-oxydante. Malgré de grandes similitudes dans leur structure, les caroténoïdes ont des

fonctions biologiques différentes d'un composé à l'autre. Par dégradation oxydative, certains caroténoïdes servent de précurseurs à la vitamine A (rétinol) dont le rôle est primordial dans la perception visuelle.

En 1930, Moore a découvert que le β -carotène peut être converti in vivo en vitamine A [58]. Depuis, le β -carotène et d'autres caroténoïdes, en particulier l' α -carotène et la β -cryptoxanthine, ont fait l'objet de plusieurs études.

Une carence en vitamine A peut entraîner un dysfonctionnement visuel comme la cécité de nuit et la xérophtalmie [59]. Elle peut altérer la fonction immunitaire, ce qui entraîne une incidence et/ ou la gravité accrue d'infections respiratoires, gastro-intestinales, et la rougeole [60, 61], ainsi que des maladies cardiovasculaires [62], une dégénérescence maculaire liée à l'âge [63], et la cataracte [64].

D'autres caroténoïdes peuvent augmenter la réponse immunitaire chez l'Homme. Dans différentes lignées cellulaires, certains caroténoïdes (lycopène, lutéine, zéaxanthine, cryptoxanthine) agissent de manière spécifique et très efficace dans la suppression de tumeurs cellulaires [65-69].

Le β -carotène et le lycopène sont de puissants désactivateurs de l'oxygène singulet, une espèce oxygénée activée particulièrement toxique, et donc un protecteur de la membrane lipidique. Les caroténoïdes peuvent aussi interagir avec des radicaux lipidiques et inhiber ainsi la peroxydation lipidique [70-72].

Les caroténoïdes jouent également un rôle important dans les traitements contre l'obésité. Maeda et al. avait signalé que l'alimentation avec du fucoxanthine (caroténoïde) réduirait de façon significative le tissu adipeux chez les rats et les souris. Par ailleurs, la combinaison de la fucoxanthine et de l'huile de poisson était plus efficace pour atténuer la prise de poids [73].

De la même manière, Ikeuchi et al. ont rapporté que l'astaxanthine inhibe la prise de poids et l'augmentation des tissus adipeux (provoqués par un régime riche en graisses), des triglycérides du foie, des triglycérides plasmatiques et du cholestérol total [74].

1.4.3.3. Domaines d'utilisation des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont largement utilisés dans les applications alimentaires [75], en particulier le β -carotène et le lycopène, qui ont une grande valeur commerciale [76].

Traditionnellement, les caroténoïdes sont utilisés dans l'alimentation, et les industries alimentaires. Les découvertes récentes de propriétés bienfaisantes des caroténoïdes ont initié un grand intérêt pour la production de diverses structures de caroténoïdes pour des applications pharmaceutiques [77].

Actuellement, les caroténoïdes sont utilisés comme colorants alimentaires naturels [78], additifs alimentaires [79], compléments de l'alimentation animale et, plus récemment, comme produits nutraceutiques, cosmétiques et pharmaceutiques [77, 80].

I.4.4. LES PECTINES

Les substances pectiques sont présentes dans tous les végétaux. Elles sont localisées dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des cellules où elles jouent le rôle de ciment intercellulaire, elles sont responsables de la rigidité et de la cohésion. L'isolation de la pectine a été effectuée pour la première fois en 1825, par le français J. Braconnot qui lui donna le nom de Pectine du mot grec Pektos (ferme/ rigide). Les sous-produits de l'industrie des jus de fruits : marc de pomme et albedo des agrumes constituent l'essentiel des sources industrielles de pectines [81].

I.4.4.1. Structure

La pectine est un polysaccharide présenté sous forme d'une chaîne linéaire d'acides D-galacturoniques liés par des liaisons glycosidiques α (1-4) (Fig. 11). Des molécules de sucres neutres : arabinose, galactose, xylose, rhamnose et glucose s'intercalent également dans la chaîne principale et sont rattachées aux fonctions hydroxyles secondaires (C2 ou C3) provoquant une irrégularité de la structure. Ces ramifications sont souvent localisées en zones dites «chevelues». De la même manière, des groupes acétyles sont liés aux fonctions hydroxyles C2 ou C3. Ces derniers sont surtout présents dans certaines matières premières tels que le tournesol ou la betterave [81].

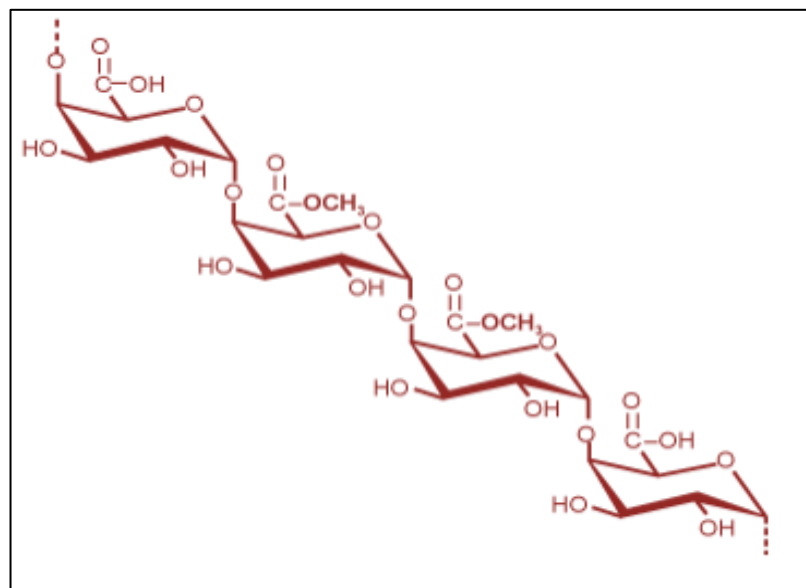


Figure 11 : Structure de la pectine

Les fonctions acides carboxyliques sont plus ou moins estérifiées par du méthanol. On définit ainsi le degré de méthylation (DM) des pectines, plus communément appelé degré d'estérification (DE), comme étant le nombre de fonctions carboxyliques méthylées pour cent motifs d'acide galacturonique de la chaîne principale [81]. On distingue ainsi deux groupes de pectines :

✚ Les pectines hautement méthylées dites pectines HM dont le DE est compris entre 50 et 75 %, et qui ne coagulent pas en présence de Ca^{2+} .

✚ Les pectines faiblement méthylées appelées pectines LM : dont le DE est inférieur à 45-50 % qui coagulent en présence de Ca^{2+} .

Les pectines LM forment des gels en présence d'ions multivalents, qui agissent comme un pont entre des paires de groupes carboxyles des différentes chaînes de pectines. Alors que les pectines HM forment des gels en milieu acide avec addition de différents sucres tels que le saccharose ou le glucose [82, 83].

La chaîne d'acide galacturonique est interrompue par des unités de β -L-rhamnose, liées par les atomes de carbone 1 et 2, ce qui provoque une déviation de l'axe de la chaîne. Cette zone de flexibilité, appelée «coude pectique», facilite la formation d'un réseau tridimensionnel lors du processus de gélification [81].

1.4.4.2. Propriétés des pectines

Les pectines possèdent des propriétés épaississantes, stabilisantes et surtout gélifiantes.

✚ **Propriétés gélifiantes**

Un gel est un réseau tridimensionnel de macromolécules incluant un solvant. Il est provoqué par des changements physiques ou chimiques qui tendent à diminuer la solubilité de la pectine, favorisant la formation de cristallisations locales. La gélification consiste en l'association des chaînes de polygalacturonate, par formation de zones de jonctions [81]. La présence des zones «chevelues» et surtout des coudes pectiques limite la taille des zones de jonctions, empêchant une précipitation totale mais permettant à une même macromolécule d'être liée à plusieurs autres, facilitant la formation du réseau.

Du fait des différences de DE, le mécanisme de gélification et les propriétés du gel sont différentes. Le gel de pectine HM est un gel acide et sucré, tandis que le gel de pectine LM est principalement calcique, thixotrope et thermo-réversible ou irréversible selon le type de pectine utilisé et les conditions d'utilisation [8], [84], [85].

✚ Propriétés stabilisantes

Cette propriété est recherchée et utilisée en prévention de la séparation d'un milieu hétérogène. Elle peut être obtenue de différentes manières. Soit par augmentation de la viscosité, ce qui peut être un facteur limitant pour certaines applications où une forte viscosité est incompatible avec la rhéologie du produit, soit par création d'un réseau suffisamment efficace pour maintenir des particules en suspension mais suffisamment faible pour ne pas être perceptible (ex : les gels-liquides) [56].

✚ Propriétés viscosifiantes

Contrairement à la gélification où un réseau tridimensionnel se forme, cette propriété est obtenue quand les molécules, du fait de leur structure, modifient leurs comportements, sans créer de zones de jonctions. Cette propriété est généralement caractéristique des pectines HM de haut poids moléculaire. Ces dernières sont utilisées dans la fabrication des eaux fruitées en raison de cette propriété.

En ce qui concerne les pectines LM, on parlera plutôt de comportement typiquement viscoélastique, dont chacune des composantes peut être modifiée en fonction, par exemple, de la teneur en calcium du milieu réactionnel [81].

✚ Propriétés thérapeutiques

Plusieurs chercheurs ont démontré que les pectines d'agrumes, de pommes, de pommes de terre ou de patates douces présentaient une activité anti-tumorale [86].

Les mécanismes anti-tumoraux de la pectine alimentaire sont en corrélation avec son activité pro-biotique, immunitaire [87-89], inhibitrice de croissance tumorale [90], et son potentiel anti-mutagène [91]. Ces mécanismes anti-tumoraux peuvent être caractérisés comme ayant des effets sur les cellules du côlon et de l'activité immunologique cellulaire [92]. Cette propriété peut être améliorée par la formulation de cette fibre avec un composant alimentaire chimio protecteur, par exemple, l'huile de foie de morue [93].

La plupart des études sur les anti-tumoraux issus des pectines alimentaires se sont concentrées sur le cancer du côlon [90] et la façon dont les mécanismes sont directement ou indirectement liés à son activité pro-biotique.

Les oligosaccharides pectiques inhibent la croissance de microbiotes dangereux dans le colon, tout en favorisant celle des pro-biotiques, tels que les bifidobactéries spp., et les *Lactobacillus* sp. [94]. En effet, les pectines alimentaires sont fermentées et transformées dans le côlon en courtes chaînes d'acides gras, tels que le butyrate, capable de neutraliser le microbiote intestinal.

Outre ces propriétés anti cancérigènes, les oligosaccharides pectiques offrent une protection cardio-vasculaire in vivo, une réduction des dommages causés par les métaux lourds, des effets anti-obésité, antitoxiques, des propriétés anti-infectieuses, antibactériennes et antioxydantes.

1.4.4.3. Domaines d'utilisation des pectines

Les pectines sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire comme agents épaississants, gélifiants ou comme stabilisants. La pectine de transformation industrielle de la betterave à sucre montre une capacité de gélification limitée et est principalement utilisée comme émulsifiant [95].

L'utilisation des pectines rentre également dans la formulation de produits pharmaceutiques pour le traitement des troubles gastro-intestinaux, le diabète, l'hypertension artérielle ou de cholestérol élevé dans le sang [96].

I.5. LES SOLVANTS

Les solvants constituent une classe de substances largement utilisée dans de nombreux secteurs économiques où ils jouent des rôles divers. Ce sont des liquides capables de dissoudre, de diluer ou d'extraire d'autres composés sans engendrer de modifications chimiques.

Il existe plusieurs manières de classer les solvants. Selon leur toxicité, leurs natures chimiques, leurs domaines d'utilisation, leurs propriétés physiques. Nous pouvons néanmoins distinguer 8 principaux groupes de solvants auxquels s'ajoutent quelques solvants particuliers [97] :

- ✚ Hydrocarbures aromatiques (benzène, toluène, xylène, cumène...).
- ✚ Solvants pétroliers (hors aromatiques : alcanes, alcènes...).
- ✚ Alcools (méthanol, éthanol, glycols...).
- ✚ Cétones (acétone, méthyéthylcétone...).
- ✚ Esters (acétates, Agrosolvants ...).
- ✚ Ethers de glycol.
- ✚ Hydrocarbures halogénés (chlorés, bromés ou fluorés).
- ✚ Solvants particuliers (amines, amides, terpènes...).

Les solvants traditionnels (Tableau II), sont généralement des composés organiques volatils, nocifs pour la santé et pour l'environnement. Le Tableau III recense certaines affections liées à l'utilisation continue de ces solvants [98].

D'un point de vue environnemental, les solvants organiques contribuent à la formation d'ozone troposphérique et à la contamination des sols et sous-sols. Le marché des solvants étant largement dominé par les solvants d'origine pétrochimique, de nos jours des réglementations environnementales contraignent les entreprises à utiliser des solvants de substitution et ce dans le but d'obtenir des produits surs «de la matière première au devenir du produit après utilisation».

Tableau II : Exemples de quelques solvants usuels [99]

Solvants	Masse molaire	T. éb (°C)	Densité	Miscibilité
Dioxyde de carbone	44	-	-	A, AC, B, C ,E
Hexane	86,18	69	0,659	A, AC, B,E
Cyclohexane	84,16	80,07	0,779	A, AC, B, C, E
Ether isopropylique	102,18	68	0,7	A, AC, E
Ether éthylique	74,12	34,5	0,714	A, AC, B, C
Chloroforme	119,38	61,7	0,779	A, AC, B, E
Acétate d'éthyle	88,12	77,06	0,901	A, AC, B, E, W
Dichlorométhane ou Chlorure de Méthylène	84,93	40	1,336	A, E
Acétone	58,08	56,2	0,818	A, B, C, E, W
Ethanol	46,07	78,5	0,798	AC, B, E, W
Méthanol	32,04	65,15	0,796	A, AC, B, C, E, W

Légende :

A: Alcool éthylique

AC: Acétone

C: Chloroforme

W : Eau

B: Benzène

E : Ether éthylique

Tableau III : Affections liées à l'utilisation de solvants pétrochimiques

	Action	Affections
Risques liés à une forte exposition	Peau ou Muqueuse	- Irritation - Brulure - Conjonctivite
	Voies respiratoires	- Irritation des voies aériennes supérieures (bouche, nez, pharynx, larynx)
	Système nerveux	-Sensation d'ivresse, vertige, maux de tête et nausées -Somnolence voir coma.
	Cœur	-Arythmies
Risques liés à une exposition régulière	Peau ou Muqueuse	-Dermatoses -Eczéma de contact
	Système nerveux	-Fatigue -Trouble du sommeil -Difficultés de concentration -Perte de mémoire -Trouble de l'humeur, irritabilité -Tendance dépressive -Altération de la fonction cognitive -Diminution de la dextérité manuelle
	Foie ou Reins	-Nécrose du foie ou des reins -Insuffisance rénale
	Reproduction	-Retard à la conception -Fausse couche -Retard de croissance intra-utérine et faible poids à la naissance -Malformations (becs-de-lièvre)

I.5.1. Règlementation

Au fil des ans, la pression réglementaire concernant les produits chimiques est devenue de plus en plus forte. En 1981, l'inventaire européen des produits chimiques commercialisés (*European Inventory of Existing Commercial Substance EINECS*) a été créé. Il enregistre toutes les *substances existantes* avant le 18 septembre 1981 au sein de l'Union européenne. Les *substances nouvelles*, enregistrées au-delà de cette date et respectueuses de contraintes toxicologiques et éco-toxicologiques ont été classées dans une liste appelée **ELINCS** (*European List of Notified Chemicals Substances*). Aujourd'hui, ces substances sont considérées comme étant enregistrées au titre de **REACH** (*Registration, Evaluation and Autorisation of Chemicals*), substances pour lesquelles des informations complémentaires devront être fournies en fonction des quantités produites ou utilisées. Selon REACH, nouveau règlement entré en vigueur depuis le 1er juin 2007, désormais il n'incombe plus aux pouvoirs publics mais aux fabricants, aux importateurs et aux utilisateurs en aval, de prouver l'absence d'effets nocifs pour la santé humaine et l'environnement, des substances fabriquées, mises sur le marché ou utilisées. De plus, les données de toxicité et d'écotoxicité devront également être exploitées pour évaluer les risques liés à leur utilisation puis définir et recommander des mesures appropriées de gestion des risques. Concrètement, REACH prévoit l'analyse et l'enregistrement, sur une période de onze ans, de 30000 substances produites ou importées dans l'Union Européenne et diffusées à plus d'une tonne par an. Les produits jugés extrêmement préoccupants devront être remplacés rapidement et, si cela s'avère impossible, seront soumis à une autorisation limitée dans le temps [100].

En plus de REACH, les solvants sont la cible de quatre autres directives européennes (1999/13/CE, 2001/81/CE, 2004/42/CE, 2004/73/CE) car ils peuvent être classés comme substances dangereuses et/ou responsables d'émissions de COV (Composés Organiques Volatils). Il est important de souligner, à ce niveau, que la définition européenne d'un COV est différente de la définition américaine [100].

En Europe, un COV est défini comme un composé organique dont la pression de vapeur saturante à 20°C est supérieure à 10 Pa alors qu'aux États-Unis il est défini comme un composé organique participant à des réactions photochimiques dans l'atmosphère (à l'exception de certains composés présents sur une liste positive intitulée « *Exempted VOC* »). Si la définition européenne est précise et ne soulève aucune ambiguïté, la définition américaine est beaucoup plus équivoque car elle ne fait pas intervenir de paramètres physico-chimiques quantifiables. En effet, l'activité photochimique de chaque composé n'est pas nécessairement connue et requiert des analyses poussées ou des simulations moléculaires avant de pouvoir déterminer s'il s'agit d'un COV [100].

I.5.2. Définition d'un bio-solvant

Depuis les années 1990, les bio-solvants ont été définis dans un premier temps, comme solvants d'origine naturelle. Ils sont également respectueux des critères sanitaires et environnementaux, car leur conception s'inscrit dans une démarche de développement durable [100].

L'adjectif «durable» ou «vert» est utilisé pour décrire différents types de solvants, y compris ceux fabriqués à partir de matières premières de biomasse et les solvants d'origine pétrochimique respectueux de l'environnement. L'appellation «agro-solvant» utilisée par l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) quant à elle vise à insister sur l'origine renouvelable de la matière première.

Les principales fonctionnalités des agro-solvants sont identiques à celles des solvants classiques. Ils sont utilisés en tant que dégraissants (nettoyage des métaux, des textiles...), adjuvants et diluants (peintures, vernis, encres, colles, pesticides,...), décapants (éliminations des vernis, encre, colle, peintures..), ou purifiants (parfums, médicaments) [101].

I.5.3. Les principales familles de bio-solvants

Les bio-solvants sont utilisés essentiellement en formulation et peu comme solvant inerte de synthèse organique. Les principaux bio-solvants entrant en jeu dans des formulations de nettoyage, de produits phytosanitaires, d'encres d'imprimerie, de peintures, de vernis ou de liants bitumineux sont cités ci-dessous.

1.5.3.1. Les esters d'huiles végétales

Ils possèdent un haut pouvoir solvant, une faible viscosité, un point d'ébullition et un point éclair élevés. Ils sont non inflammables, biodégradables et non toxiques. De plus ils n'émettent pas de COV.

Les acides gras utilisés en vue de l'estérification avec un alcool et donner principalement des esters méthyliques ou éthyliques, proviennent majoritairement d'huiles de colza, de tournesol et de soja [101].

1.5.3.2. Les esters d'acides organiques fermentaires

Ce sont des composés oxygénés et polaires, avec un haut point d'ébullition. Ils sont biodégradables. Ces esters sont obtenus par estérification d'un alcool avec des acides organiques bio-synthétisés tels que les acides acétique, citrique, gluconique, lactique, succinique... Ils sont obtenus à partir de la chimie des sucres [101].

1.5.3.3. L'éthanol et les terpènes

Ils ont un haut pouvoir solvant. L'éthanol est obtenu principalement par fermentation de matières riches en sucres comme la betterave et les céréales. Tandis que les terpènes sont des hydrocarbures insaturés extraits du pin (α et β -pinène) ou des agrumes (d-limonène). Seuls les alcools terpéniques ne sont pas considérés comme étant des COV (tension de vapeur < 10 Pa à 293,15 K) [101].

I.5.4. Domaines d'utilisation des agro-solvants

Les agro-ou bio-solvants sont utilisés dans divers domaines.

I.5.4.1. Les encres

Venue de l'Europe du Nord au travers des labels verts, la tendance à l'utilisation d'encres végétales est née il y a quelques années, de pressions réglementaires et d'une prise en compte de la défense de l'environnement. Le principal domaine d'application concerne les encres offset. Actuellement, ce sont les performances techniques (brillance et intensité des imprimés), et les propriétés d'impression (confort d'utilisation, transfert, stabilité en machine), que les formulateurs cherchent à améliorer. Les encres végétales actuelles suscitent donc un intérêt de plus en plus fort, en particulier pour des applications dans l'emballage alimentaire, sous réserve de diminuer l'odeur [101].

I.5.4.2. Les produits phytosanitaires

L'émergence des esters méthyliques d'huile de colza dans les adjuvants est liée aux critiques faites de plus en plus aux huiles minérales aromatiques. D'un point de vue environnemental et réglementaire, l'accent est aujourd'hui mis sur l'apport des adjuvants végétaux à une agriculture performante et raisonnée, en particulier au travers de l'élaboration d'une norme AFNOR.

Quant à l'utilisation d'agro-solvants dans la formulation de produits phytosanitaires, elle reste freinée par l'étape d'homologation des produits et par la faible capacité de solubilisation des principes actifs par les agro-solvants [101].

I.5.4.3. Le nettoyage manuel à froid de surface

Qu'il s'agisse de nettoyages grossiers, de nettoyage d'imprimerie ou de décapage de peintures, les agro-solvants utilisés sont prometteurs sous réserve d'améliorer leur qualité ou leur rapidité d'action [101].

I.5.4.4. Les peintures

La formulation de peintures avec des agro-solvants comme réactifs suscite un intérêt pour les formulateurs afin de passer sous les limites COV, notamment en ce qui concerne toutes les peintures qui ne peuvent pas passer à l'aqueux (peinture haut brillant, peintures pour les plafonds anti-tache, peintures sur support farinant) [101].

1.5.4.5. Les détergents

Bien que ce secteur ne s'inscrive pas dans une démarche de substitution des solvants, les formulateurs manifestent un intérêt pour tester des agro-solvants dans leurs formulations afin d'améliorer le caractère environnemental et toxicologique de leurs produits [101].

1.5.4.6. L'Extraction

Depuis quelques années, les agro-solvants sont utilisés comme substitution aux solvants organiques dans l'extraction de composés bioactifs tel que les colorants, les composés phénoliques ou les huiles [102-107].

CHAPITRE II : LES PROCÉDES
D'EXTRACTION

CHAPITRE II: LES PROCEDES

D'EXTRACTION

La récupération des composés bio-actifs à partir de matières végétales est influencée par le procédé utilisé. Selon la nature des composés à extraire, plusieurs procédés peuvent être utilisés. Ces derniers peuvent être classés en deux catégories : les procédés conventionnels (classiques) et les procédés innovants.

Ce chapitre est consacré à un état de l'art des techniques les plus utilisées pour l'isolation des composés naturels d'origine végétale.

II.1. PROCEDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

Plusieurs procédés d'extraction des huiles essentielles sont connus et utilisés à ce jour.

II.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau (EV)

L'entraînement à la vapeur d'eau est une technique très ancienne. Elle consiste à récupérer l'huile essentielle contenue dans les cellules végétales au moyen de la vapeur d'eau.

La matière végétale est placée dans un réacteur au travers duquel de la vapeur d'eau provenant d'une chaudière ou un générateur de vapeur est introduite. Traversée par la vapeur d'eau, la structure végétale s'effondre et libère l'huile essentielle qui est entraînée et véhiculée par la vapeur d'eau vers un réfrigérant où est condensé le mélange huile essentielle – vapeur d'eau, avant d'être récupérée dans un essencier. L'hydrolat et l'huile essentielle, de densités différentes, se séparent naturellement dans l'essencier.

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, et entre l'eau et les molécules aromatiques extraites, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [108].

II.1.2. Hydrodistillation (HD)

La découverte de cette technique est attribuée au médecin et philosophe persan *IBN SINA*, qui a extrait la première huile essentielle pure à partir de la rose [109].

Dans cette technique, la matière végétale est immergée dans l'eau à l'intérieur d'un ballon, l'ensemble est porté à ébullition. Sous l'effet de la chaleur, la structure

cellulaire du matériel végétal libère l'huile essentielle. La vapeur d'eau entraîne ensuite les composés volatils vers un réfrigérant où est obtenu le mélange huile essentielle - eau. L'huile essentielle est ensuite récupérée par simple décantation.

L'altération de certains constituants, suites à des réactions d'hydrolyses dues au contact avec l'eau et une température élevée (100 °C), l'obtention d'une huile exempte ou appauvrie en certains constituants solubles dans l'eau, ainsi que des durées d'extraction longues, comptent parmi les inconvénients majeurs de cette technique.

II.1.3. Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. La différence tient à la façon dont la vapeur entre dans l'alambic : le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau ainsi qu'un temps de traitement plus court [110].

II.1.4. Expression à froid

L'expression à froid est une technique qui a pris naissance en Sicile et en Calabre, avant d'être utilisée par tous les pays producteurs d'agrumes [111]. Ce procédé d'extraction est réservé spécifiquement aux agrumes en raison de la localisation de leurs huiles essentielles. Il consiste à dilacérer les péricarpes ou « zestes » (flavedo) pour en recueillir les essences aromatiques contenue dans les sacs oléifères, qui tapissent l'écorce du fruit. L'essence est ensuite entraînée par de l'eau, avant de subir une décantation pour en être séparée.

II.1.5. Extraction assistée par micro-ondes (MAE)

Suite aux inconvénients rencontrés par les procédés classiques (durées de traitements trop longues, obtention de produits dénaturés, consommations énergétiques élevées...), des études menées durant ces dernières décennies sur de nouvelles technologies ont conduit à l'émergence de procédés d'extraction innovants plus efficaces permettant des réductions des temps d'extraction et de la consommation d'énergie, ainsi qu'une augmentation des rendements et l'amélioration de la qualité des produits obtenus. Parmi ces nouvelles techniques, nous pouvons citer les techniques assistées par micro-ondes.

L'extraction assistée par micro-ondes des huiles essentielles se décline sous plusieurs variantes.

II.1.5.1. Entraînement à l'air assisté par micro-ondes (CAMD)

Cette technique repose sur le principe de l'entraînement à la vapeur d'eau où la vapeur est substituée par de l'air comprimé. Elle consiste à injecter en continu de l'air comprimé dans le réacteur d'extraction où la matrice végétale est immergée dans de l'eau et chauffée sous micro-ondes. La vapeur d'eau saturée en huile essentielle est ensuite condensée et récupérée dans un vase de récupération situé à l'extérieur du four à micro-ondes.

Cette technique donne des résultats sensiblement équivalents, de manière qualitative et quantitative, avec une durée d'extraction de 5 min contre une durée de 90 min requises pour l'entraînement à la vapeur d'eau conventionnelle [112, 113].

II.1.5.2. Hydrodistillation sous pression réduite (VMHD)

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite, a été élaborée et brevetée par la société Archmiex dans les années 90 [114]. Cette technique d'extraction est basée sur l'hydrodistillation classique. Son principe repose sur l'utilisation conjointe des micro-ondes et d'un vide pulsé. La matrice végétale est soumise aux micro-ondes dans le but d'assurer le transfert de matière, puis elle est soumise à un vide pulsé qui permet l'entraînement azéotropique des substances volatiles à une température inférieure à 100 °C.

Ce procédé d'extraction serait dix fois plus rapide que l'hydrodistillation et donne des rendements équivalents, un extrait de composition identique et préserve les composés thermosensibles [115].

II.1.5.3. Hydrodistillation assistée par micro-ondes (MAHD)

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes (MAHD) est un procédé développé par Stashenko et coll. [116, 117]. C'est une variante de l'hydrodistillation classique. Il consiste à placer la matière végétale en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un four à micro-ondes, l'ensemble est ensuite soumis à un chauffage micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four.

Cette technique a été appliquée pour l'extraction de plusieurs huiles essentielles à partir de plantes aromatiques et d'épices [116-122]. Ces études ont montrés que les durées d'extraction par MAHD sont plus courtes que pour l'HD pour des rendements et des compositions chimiques des huiles quasi identiques.

II.1.5.4. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME)

Mise au point et brevetée en 2004 par Chemat et *al.* [123, 124], l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME) est l'une des techniques les plus récentes utilisée dans l'extraction des huiles essentielles à pression atmosphérique

sans ajout d'eau ni de solvant. Elle consiste à placer le matériel végétal frais dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle qui est libérée et ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal vers un système de refroidissement de type Clevenger situé à l'extérieur du four micro-ondes. Ce dernier permet la condensation du mélange composé de vapeur d'eau et d'huile essentielle, et de maintenir un taux d'humidité constant de la matrice végétale tout au long de l'extraction. L'huile est ensuite séparée de l'hydrolat par simple décantation.

Notons que cette technique s'utilise pour des matrices fraîches dont la teneur en eau doit être relativement élevée (supérieure à 75 %).

II.1.5.5. Entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes (EVMO)

L'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes a été développé par Sahraoui *et al.* en 2008 [125]. Le procédé repose sur le même principe que l'entraînement à la vapeur d'eau classique, la différence réside dans le fait que dans ce procédé, la matière végétale placée à l'intérieur d'un four micro-ondes est soumise à une irradiation micro-ondes. Le générateur de vapeur, ainsi que les dispositifs de réfrigération et de récupération de l'huile essentielle sont placés à l'extérieur du four micro-ondes.

L'EVMO requiert des temps d'extraction plus courts que l'entraînement à la vapeur d'eau classique, pour des rendements et des compositions chimiques des huiles comparables.

II.1.5.6. Hydro-diffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG)

L'hydro-diffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG) a été conçue et brevetée en 2008 par Chemat *et al.* [126], pour l'extraction des huiles essentielles. Cette technique inspirée de la SFME, combine le chauffage micro-ondes et la gravité (la pesanteur) à pression atmosphérique ou sous pression réduite. La matière végétale fraîche est placée directement dans un réacteur micro-ondes renversé sans ajout de solvant organique ni d'eau. Le chauffage de l'eau de constitution de la matrice provoque l'éclatement des cellules de la plante et conduit au relargage des métabolites secondaires qui sont transférés de l'intérieur vers l'extérieur de la matière végétale par hydro-diffusion. Ce mélange est ensuite condensé et recueilli dans un vase Florentin. L'huile essentielle et l'eau de constitution sont ensuite séparées par différence de densité.

II.1.5.7. Vapo-diffusion Assistée par Micro-ondes (MSDf)

La vapo-diffusion assistée par micro-ondes (MSDf) a été élaborée par Farhat *et coll.* en 2009 [127]. Le procédé consiste à placer le matériel végétal dans un

réacteur à l'intérieur d'un four à micro-ondes où il est soumis à un flux de vapeur descendant. L'application des rayonnements magnétiques, durant le passage de la vapeur au travers de la matrice végétale induit l'éclatement des glandes sécrétrices d'huile essentielle. La vapeur d'eau chargée en huile essentielle est ensuite véhiculée vers un système de refroidissement. L'huile essentielle est récupérée par simple décantation [128].

II.2. PROCÉDES D'EXTRACTION PAR SOLVANT

L'extraction par solvant volatil est aujourd'hui la méthode la plus usitée pour l'extraction à partir de matrices végétales de composés peu ou pas entraînés par la vapeur d'eau. Son principe consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants généralement à température ambiante par un solvant volatil. Le mélange solvant-extrait est ensuite séparé du solvant par évaporation sous vide de ce dernier afin d'éviter la dégradation thermique des molécules extraites.

Comme pour les huiles essentielles, plusieurs procédés peuvent être utilisés, conventionnels ou faisant intervenir de nouvelles technologies. Nous présentons dans ce qui suit les plus utilisés.

II.2.1. Extraction par solvant fixe

Cette méthode d'extraction est utilisée dans l'extraction à froid des essences de fleurs délicates (l'enfleurage) ou à chaud pour la macération. La particularité de cette méthode est qu'elle utilise des matières grasses comme solvants fixes.

II.2.2. Extraction par solvant volatil

L'extraction par solvant volatil est la méthode la plus courante dans le domaine de l'extraction de matrices végétales. Le principe de cette technique consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants, généralement à température ambiante, par un solvant volatil. Elle peut se faire en batch, c'est la macération, ou en continue (le solvant est continuellement renouvelé).

Divers solvants sont utilisés dans les différentes procédures élaborées pour l'extraction des composés bio-actifs ; les plus fréquents étant : l'acétone, l'éthanol, le tétra-hydro-furane (THF), l'hexane, le toluène, l'éther di-éthylique, le méthanol, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, l'éther de pétrole, le chloroforme, le butanol [129].

Des combinaisons de solvants sont également utilisées, comme par exemple des mélanges hydro-alcooliques pour l'extraction des polyphénols.

En plus de la macération qui est la procédure classique, plusieurs autres techniques sont utilisées pour l'extraction par solvants volatils.

II.2.2.1. Extraction par Soxhlet

Un ensemble Soxhlet est constitué d'un ballon mono col, d'un extracteur et d'un réfrigérant. L'extracteur est un réservoir avec un système de tube permettant la vidange du réservoir. L'ensemble est complété par une cartouche en cellulose placée dans l'extracteur, destinée à recevoir la matière à traiter. Ses inconvénients les plus significatifs sont les durées d'extraction trop longues et d'importantes quantités de solvant consommées (devant être ultérieurement évaporées), ce qui limite sa rentabilité économique et la rend peu écologique. Cette technique d'extraction a été combinée ces dernières années aux micro-ondes et aux ultrasons [130].

II.2.2.2. Extraction assistée par ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons est une méthode simple, efficace et peu coûteuse comparée à une extraction classique. Elle consiste à traiter sous ultrasons un solide, sec ou humide, immergé dans un solvant. Les ultrasons permettent d'accélérer l'extraction. Ceci conduit, à des durées d'extraction réduites à seulement quelques minutes, comparée aux procédés conventionnels qui nécessitent plusieurs heures, et jusqu'à quelques jours dans certains cas. Elle permet de travailler à des températures relativement basses ce qui permet d'éviter la thermodestruction des composés.

Cette réduction de la durée d'extraction est expliquée par un phénomène de cavitation et à l'effet thermique résultant ayant pour conséquence la rupture des parois cellulaires, la réduction de la taille des particules ce qui améliore le transfert de matière et la récupération des composés à extraire [131].

II.2.2.3. Extraction par fluides supercritiques (SFE)

Les fluides supercritiques et principalement le dioxyde de carbone CO₂ sous pression (100 - 400 bars) et à une température voisine de l'ambiante (30 - 60 °C) font l'objet d'un très vif intérêt en raison de leurs propriétés physico-chimiques particulières qui leur permettent d'envisager des applications dans de nombreux domaines, notamment dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, cosmétologiques et l'extraction de composés à partir de matrices végétales [132].

En plus du CO₂, l'eau est également utilisée dans cette technique. A des températures comprises entre 100 °C mais inférieures au point critique (374°C), et à des pressions inférieures à 221 bars, l'eau devient subcritique. Dans ces conditions, elle reste à l'état liquide mais se transforme en un solvant aux propriétés particulièrement intéressantes dans le domaine de l'extraction végétale. La viscosité et la tension de surface de l'eau subcritique sont inférieures à celle de l'eau à température ambiante, sa diffusivité augmente et sa constante diélectrique se rapproche de celle de solvants organiques tels que l'éthanol ou l'acétone. Il en résulte une meilleure pénétration du solvant dans les matrices végétales, le transfert de masse est amélioré et le taux de

diffusion est plus rapide ce qui conduit à des rendements d'extraction plus élevés avec des temps de contact très courts [109].

II.2.2.4. Extraction accélérée par solvant (ASE)

L'ASE utilise l'effet combiné d'une température élevée et de la pression avec des solvants classiques pour augmenter l'efficacité du processus d'extraction. Il en résulte des temps d'extraction plus rapides et une réduction significative des volumes de solvants. Cette méthode est utilisée et certifiée dans les domaines environnementaux, pharmaceutiques, industriels et agroalimentaires [133]. La combinaison d'une température élevée et de la pression conduit à des extractions d'une grande efficacité grâce aux effets suivants [133](Corporation 2010)[133][133][132][132][133](Corporation, 2010)[133](Corporation, 2010)(Corporation, 2010) :

- ✚ Haute solubilité de l'analyte,
- ✚ Réduction de l'effet matrice ou diminution des interactions matrice-analyte,
- ✚ Diffusion plus rapide de l'analyte de la matrice vers le solvant,
- ✚ Réduction de la viscosité du solvant pour une meilleure pénétration dans la matrice,
- ✚ Une pression accrue pour maintenir le solvant à l'état liquide pendant l'étape d'extraction,
- ✚ Une consommation réduite en solvant,
- ✚ La circulation du solvant dans l'échantillon «du haut vers le bas», et une ligne fluide renforcée pour résister au pH et supporter les échantillons acides ou basiques [133](Corporation 2010)[133][133][132][132][133](Corporation, 2010)[133](Corporation, 2010)(Corporation, 2010).

Ses inconvénients sont liés à son coût élevé et surtout sa non sélectivité, ce qui impose des procédures supplémentaires de nettoyage des extraits. Les températures opératoires élevées peuvent aussi mener à une dégradation des solutés thermolabiles.

CHAPITRE III :
NOTIONS SUR LES MICRO-ONDES
ET LES ULTRASONS

CHAPITRE III : NOTIONS SUR LES MICRO-ONDES ET LES ULTRASONS

Contrairement aux techniques d'extraction classiques, l'extraction assistée par micro-ondes et par ultrasons entraînent des phénomènes physiques particuliers.

C'est pourquoi, dans ce présent chapitre, nous allons nous intéresser à quelques définitions de bases concernant ces deux technologies.

III.1. LES MICRO-ONDES

Les ondes électromagnétiques trouvent des applications dans divers domaines tels que la synthèse organique, l'environnement, l'agroalimentaire, la médecine, l'extraction, etc. Dans ce chapitre, nous allons donner un aperçu sur la découverte du four micro-ondes, ainsi que des définitions sur le principe des micro-ondes, leurs applications et les mécanismes qu'ils induisent.

III.1.1. La découverte du four micro-ondes

Comme beaucoup de grandes inventions d'aujourd'hui, le four à micro-ondes est un sous-produit d'une autre technologie. Cette découverte a été attribuée à un ingénieur autodidacte américain nommé Percy Spencer qui suite à un projet de recherche lié au radar a remarqué quelque chose de très inhabituel. Ceci donna naissance quelques années plus tard au four micro-ondes.

En effet, c'est en travaillant sur la production en série de tube sous vide, appelé magnétron, responsable des impulsions électromagnétiques du radar que Percy Spencer a découvert qu'une barre de chocolat placée dans sa poche avait fondu. Intrigué par ce phénomène, il décide de renouveler l'expérience en plaçant quelques grains de maïs près du tube, ceux-ci chauffent tellement qu'ils se transforment en pop-corn. Il retente ensuite l'expérience en plaçant un œuf qui explose sous l'effet de la pression interne due à l'échauffement intense et rapide provoqué par le magnétron. Il façonna alors, une boîte métallique dotée d'une ouverture par laquelle pouvaient pénétrer des micro-ondes. Une fois l'énergie dans la boîte, elle ne pouvait plus en sortir créant ainsi un champ électromagnétique à haute densité. Lorsque de la nourriture était placée dans la boîte et de l'énergie envoyée, la température des aliments s'élevait très rapidement. Spencer avait alors inventé ce qui allait révolutionner la cuisine et être à la base d'une industrie de centaines de millions de dollars.

L'ingénieur dépose le premier brevet pour un four à micro-ondes, que l'entreprise Raytheon commence à produire en 1947 sous le nom de Radar Range. L'appareil ne

ressemblait guère à ceux que nous connaissons aujourd'hui : aussi gros qu'un réfrigérateur, il pesait 320 kilos et coûtait 3000 dollars, ce qui le réservait aux restaurants et aux collectivités.

Ce n'est qu'en 1967, après le rachat de Raytheon par un fabricant d'électroménager, Amana, que le four à micro-ondes fera son entrée dans les cuisines des particuliers avec un modèle compact vendu moins de 500 dollars. Aux Etats-Unis, le succès sera très rapide ; dès 1975, les ventes dépasseront celles des fours à gaz, avant de conquérir l'ensemble de la planète durant la décennie suivante [134].

III.1.2. Définitions

Une onde électromagnétique est composée d'un champ électrique et d'un champ magnétique sinusoidaux. Les micro-ondes appartiennent à une bande de fréquences comprises entre 300 MHz et 300 GHz, soit des longueurs d'onde dans l'air ou le vide comprises entre 1 m et 1 mm. Elles sont naturellement émises par le soleil, et se situent dans les hyperfréquences, entre les ondes radios (10⁸ Hz) et l'infrarouge (10¹² Hz) (**Fig.12**) [135].

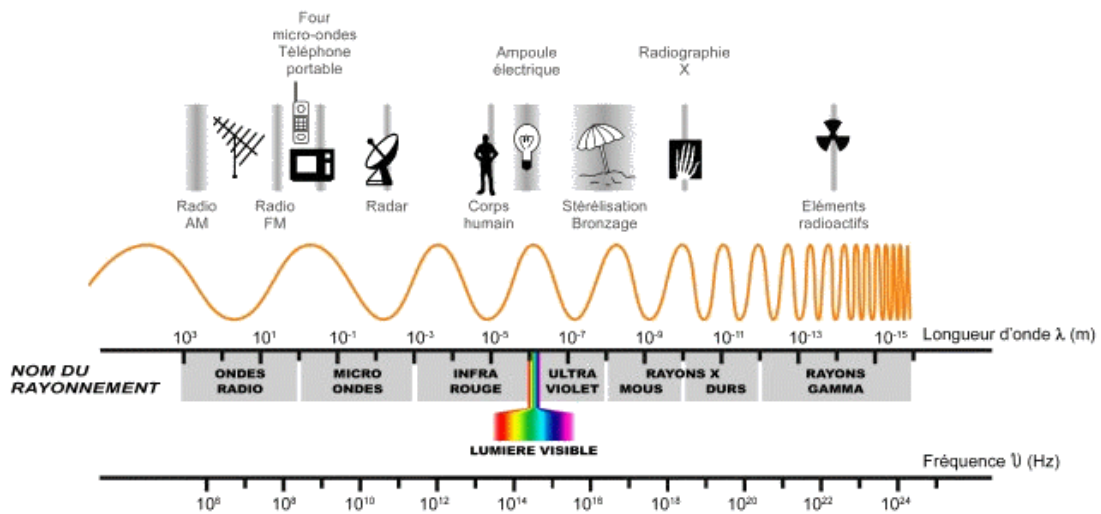


Figure 12 : Spectre des fréquences électromagnétiques

Une onde électromagnétique se caractérise alors par les paramètres suivants :

- ✚ Sa vitesse de propagation dans l'air, égale à la vitesse de la lumière notée **c**,
- ✚ Sa longueur d'onde $\lambda = c/f$, **f** étant la fréquence exprimée en hertz (Hz).

Le terme micro-ondes provient du fait que ces ondes ont une longueur d'onde plus courte que celle de la bande VHF, utilisée par les radars pendant la seconde guerre mondiale.

III.1.3. Le four micro-ondes

La plupart des fours micro-ondes se composent de trois éléments de base : un générateur micro-ondes, un guide d'ondes et un applicateur.

Le générateur micro-ondes appelé aussi magnétron est un tube à vide, sans grille d'arrêt, avec une cathode centrale chauffée par un filament et une anode massive et concentrique dans laquelle sont creusées plusieurs cavités résonnantes. A chaque extrémité du tube, deux aimants créent un champ magnétique axial permanent. Le parcours des électrons, en spirale du fait du champ magnétique, se fait à une fréquence accordée aux cavités résonnantes.

Le guide d'ondes sert à convoyer et à guider les ondes émises par le magnétron vers l'applicateur. C'est un tube métallique cylindrique dont la section droite est limitée par un contour fermé pouvant contenir d'autres contours.

L'applicateur est une cavité fermée qui permet de diffuser correctement les micro-ondes produites par le magnétron sur le produit à traiter. Deux types de cavités sont utilisées : les cavités monomodes et les cavités multi modes. Le choix de l'une de ces technologies dépend de la connaissance des caractéristiques diélectriques, des dimensions et de la nature du produit à traiter.

III.1.4. Les interactions Ondes - Matière

Le principe du chauffage par micro-ondes est basé sur l'effet direct des micro-ondes sur les matériaux ou les solvants polaires. Il est dicté par deux phénomènes fondamentaux, à savoir, la conduction ionique et la rotation dipolaire. Dans la plupart des cas, les deux phénomènes ont lieu simultanément [136].

Le mécanisme du chauffage diélectrique repose sur le fait que les molécules polaires telles que l'eau ont des extrémités négatives et positives : ce sont des dipôles. En l'absence de champ électrique, les dipôles d'un milieu diélectrique se trouvent orientés au hasard sous l'effet de l'agitation thermique du milieu. Sous l'effet d'un champ électrique continu, les molécules tendent à s'orienter dans la direction du champ électrique. Plus le champ électrique est intense, moins l'agitation thermique qui tend à désorganiser l'alignement a d'importance. Lorsque toutes les molécules sont orientées, il apparaît un moment dipolaire global induit.

Sous l'effet d'un champ électrique alternatif de fréquence f , les dipôles s'orientent dans la direction du champ sur une demi alternance, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens pendant la seconde demi alternance : c'est la rotation dipolaire.

L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par la rotation des dipôles. L'énergie cinétique est transformée partiellement en chaleur : l'alignement des

dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules (les forces de liaison par pont hydrogène et les forces de liaisons de Van der Waals). Ces forces peuvent être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Elles s'opposent ainsi à la libre rotation des molécules. De la friction produite, naît le dégagement de chaleur. La dissipation d'énergie par le produit peut être maximale si la fréquence du champ électrique est égale à la fréquence de relaxation. Le phénomène de relaxation correspond à l'apparition d'un déphasage entre l'oscillation du champ électrique et celui des dipôles. Les fréquences micro-ondes étant imposées, l'échauffement d'un produit avec une efficacité maximale est exceptionnel. Dans ce cas, une grande partie des molécules soumises à l'action du champ micro-ondes ne tourne pas avec le changement alternatif du champ mais frissonne comme le montre la **Figure 13** [137](Seguin and Villeneuve)[137][137][136][136][137](Seguin & Villeneuve)[137](Seguin & Villeneuve).

Sous l'effet du chauffage micro-ondes, le transfert de chaleur est inversé par comparaison au chauffage conventionnel. En effet, le transfert de chaleur classique s'effectue de l'extérieur vers l'intérieur du matériau tandis que sous chauffage micro-ondes, le volume traité devient lui-même source de chaleur. On parle de dégagement de la chaleur de l'intérieur vers l'extérieur du matériau.

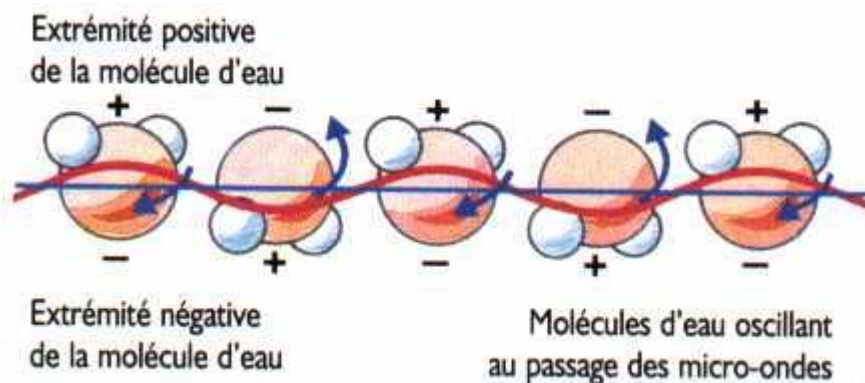


Figure 13 : Mécanisme du chauffage micro-ondes (Seguin and Villeneuve).

III.1.5. Domaines d'application

Depuis plus d'un demi-siècle, des physiciens, des chimistes, des scientifiques et des ingénieurs ont cherché à exploiter les interactions des micro-ondes avec les matériaux. Contrairement aux techniques classiques de chauffage par conduction ou convection, l'utilisation des micro-ondes implique une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière. Le chauffage par micro-ondes d'un produit résulte ainsi de la conversion en chaleur de l'énergie d'une onde électromagnétique au sein de ce matériau.

Cependant, l'utilisation des micro-ondes concerne essentiellement les matériaux diélectriques, c'est-à-dire isolants ou mauvais conducteurs d'électricité (par exemple le bois, les denrées alimentaires et les matières plastiques).

Dans les applications industrielles, la technique d'échauffement par irradiation micro-ondes concerne de nombreux secteurs, parmi lesquels notamment : l'agro-alimentaire, l'industrie des caoutchoucs et des plastiques [138](Goupy and Creighton 2006)[138][138][137][137][138](Goupy & Creighton, 2006)[138](Loupy). Quelques exemples d'application sont cités ci-dessous.

- ✚ Traitement de la céramique par micro-ondes : l'assemblage, le soudage, le procédé solution-gélification, le frittage et l'hybridation.
- ✚ Traitement par micro-ondes des polymères : durcissement de matériau composite, accélération de polymérisation, polymérisation en phase solide, traitement des émulsions de polymères sensibles à la chaleur.
- ✚ Utilisation des micro-ondes dans la synthèse organique, les réactions inorganiques et la production des diamants synthétiques.
- ✚ Traitement de matériaux conducteurs par micro-ondes : durcissement de fibres de carbone dans les matières plastiques renforcées, frittage de poudre de métaux, traitement des métaux et des matériaux conducteurs.
- ✚ Assainissement des déchets et applications environnementales : le traitement in situ des sols contaminés, la stérilisation médicale, le traitement des déchets dangereux.
- ✚ Extraction avec ou sans solvant assistée par micro-ondes.
- ✚ Séchage des matériaux sensibles à la chaleur par micro-ondes : textiles, polymères, etc.
- ✚ Séchage du papier, du carton, du bois.
- ✚ Durcissement de panneaux structuraux et structures composites.
- ✚ Traitement en électronique.

L'efficacité en termes de rendement et de sélectivité (pureté des produits), des procédés assistés par micro-ondes sont un corollaire de ces conditions particulières de transfert de matière et d'énergie. En effet, contrairement aux sources classiques de chauffage, l'énergie micro-ondes est capable de chauffer les matériaux de l'intérieur vers l'extérieur, en profitant des propriétés d'absorption distinctifs des matériaux traités, ce qui peut entraîner des avantages potentiels, représentés par des durées de chauffage plus courtes, une consommation d'énergie moindre et une réduction des pertes d'énergie au cours du processus.

III.1.6. Application des micro-ondes dans l'industrie agroalimentaire

Le chauffage micro-ondes dans le secteur agroalimentaire vise diverses applications.

II.1.6.1. Le séchage d'aliments et de produits agricoles

Le défi majeur du séchage des aliments frais est de réduire la teneur en humidité à un niveau assez bas tout en maintenant les qualités organoleptiques et chimiques du produit lors de cette opération. Contrairement à un traitement thermique classique dans lequel l'énergie est transférée du milieu extérieur vers l'intérieur du matériau par convection, conduction et rayonnement, le chauffage diélectrique des micro-ondes implique la dissipation de l'énergie micro-onde directement dans les matériaux à travers une interaction moléculaire avec le champ électromagnétique. L'énergie thermique nécessaire pour l'évaporation de l'humidité est directement générée au sein des matériaux de manière à permettre un séchage rapide et uniforme des matières épaisses [139].

III.1.6.2. Extraction assistée par micro-ondes des antioxydants

Outre le séchage des aliments, les micro-ondes sont utilisées dans l'extraction de composés à hautes valeurs ajoutés issus des rejets de l'industrie agroalimentaire. En effet, bon nombre de composés peuvent être recyclés à partir de ces déchets parmi lesquels nous pouvons compter les antioxydants naturels, qui sont l'objet d'une attention particulière des chercheurs du monde entier et ce suite aux effets cancérigènes des antioxydants synthétiques tels que le BHA et le BHT. Le Tableau IV recense quelques études menées sur l'extraction assistée par micro-ondes des antioxydants à partir de différentes matrices.

De manière générale, l'utilisation des micro-ondes dans l'extraction des antioxydants permet d'obtenir de meilleurs rendements comparés aux méthodes classiques d'extraction en plus d'une réduction de la quantité de solvant utilisé.

Tableau IV : Extraction assistée par micro-ondes d'antioxydants

Matrice	Composé	Technique	Conditions opératoires	Référence
Grains de riz	Composés phénoliques	EAM	T=185°C, P = 1000W Temps = 20 min, Ratio Solide/Solvant = 10%	[140]
<i>Eclipta prostrata</i>	Composés phénoliques	EAM	T=70°C, P = 400W Temps = 2 min	[141]
<i>Eucalyptus robusta</i>	Composés phénoliques	EAM	P = 600 W, Temps =3min, Ratio Solide/Solvant = 2 %	[142]
<i>Prunus cerasus</i>	Anthocyanines	EAM	T=60°C, P = 400W Temps = 6 – 9 min,	[143]
	Acides phénoliques	EAM	T=70°C, P = 400W Temps = 10 min,	

Légende : EAM : Extraction assistée par micro-ondes

III.1.6.3. Extraction assistée par micro-ondes des colorants

Les principaux paramètres de sélection d'une technologie d'extraction sont les caractéristiques biochimiques des molécules extraites, la rapidité, la quantité de solvant utilisée, la reproductibilité, le rendement d'extraction, la sélectivité, ainsi que le coût d'extraction.

Dans le cas des colorants naturels, l'extraction s'effectue moyennant des solvants organiques, par macération, percolation, extraction contre-courant, ou par Soxhlet. Outre la reproductibilité de ces procédés, ils impliquent néanmoins l'utilisation de grandes quantités de solvants, et présentent un risque de dénaturation thermique des composés extraits. C'est pourquoi, les techniques utilisant l'énergie micro-ondes s'avèrent intéressantes pour l'extraction des colorants naturels. En effets, plusieurs chercheurs ont démontré l'intérêt de combiner l'énergie micro-ondes aux procédés d'extraction conventionnels et ce dans le but d'obtenir de meilleurs conditions d'extraction (réduction de la quantité de solvant utilisée, réduction de la durée d'extraction, augmentation du rendement d'extraction). Parmi ces colorants, l'un des plus difficiles à extraire est le lycopène (pigment naturel présent dans la pelure de tomates) qui est utilisé comme colorant naturel depuis de nombreuses années. Etant extrêmement sensible à la dégradation, sa récupération par les moyens conventionnels donne très peu de résultats. Ho et all., ont montré qu'une extraction assistée par micro-ondes permet une récupération efficace du lycopène avec un rendement d'extraction s'élevant à 13,592 mg/ 100 g de matière pour une quantité de solvant de 20 mL, une puissance micro-ondes de 400 W et un ratio solide/solvant de 10 %. Tandis que l'extraction conventionnelle donne des proportions plus élevées

d'isomères de lycopène [144]. Lianfu et Zelong ont décrit l'extraction du lycopène de la tomate avec des techniques d'extraction combinant les ultrasons et les micro-ondes et ont comparé les résultats avec ceux obtenus par extraction assistée par ultrasons. Le rendement obtenu avec l'extraction assistée par ultrasons est de 89,4 % en lycopène contre 97,4 % avec l'extraction combinant les ultrasons et les micro-ondes. Cette technique donne de meilleurs rendements sur des temps plus courts tout en consommant moins de solvant [145].

III.1.6.4. Extraction assistée par micro-ondes des huiles essentielles et des arômes

Depuis la nuit des temps, les huiles essentielles sont connues et utilisées pour leurs arômes, pour leurs vertus cosmétiques et pour leurs propriétés apaisantes et médicinales. Traditionnellement extraites par des procédés physiques tels que la distillation à la vapeur ou l'hydro distillation, elles nécessitent souvent des temps d'extraction fastidieux pouvant aller jusqu'à quelques heures (3 heures pour les huiles essentielles d'agrumes), entraînant ainsi une consommation d'énergie conséquente, et d'éventuelles dégradations des huiles obtenues. C'est dans le but de palier à ces contraintes que les chercheurs ont mis au point de nouvelles méthodes d'extraction faisant appel à l'énergie micro-ondes ce qui a donné naissance plusieurs techniques développées dans le chapitre II. Certaines de ces techniques ont remplacé les procédés classiques d'extraction utilisés dans les laboratoires et les entreprises.

III.1.6.5. Extraction assistée par micro-ondes des huiles végétales et des graisses

Les matières grasses est le nom générique donné à une catégorie de lipides généralement dénommés acylglycérides. Ce sont des esters dans lesquels deux ou trois acides gras sont liés à une molécule de glycérol formant des monoglycérides, des diglycérides, ou des triglycérides, respectivement. Les graisses les plus courantes sont les triglycérides. Ils peuvent être solides ou liquides à température ambiante en fonction de leur structure et de leur composition particulière.

Les méthodes d'extraction conventionnelles des lipides sont fondées sur trois procédés qui sont classiquement utilisés pour extraire l'huile à partir des graines oléagineuses : la pression unique ou double, l'extraction directe par solvants et le procédé mixte, couplant le pressage à une extraction par solvant sur le tourteau [146]. Elles concernent essentiellement l'extraction des fruits et graines.

Les méthodes modernes d'extraction des lipides sont l'extraction par fluides supercritique [147], l'extraction assistée par ultrasons [148], et l'extraction assistée par micro-ondes [149] qui a été identifiée comme la méthode la plus simple et la plus efficace pour l'extraction de lipides. Cependant, l'un des inconvénients commun à toutes ces techniques est l'utilisation de solvant comme le n-hexane ; néanmoins, une solution à ce problème a été proposée par Chemat et al. (Chemat, Tomao et al. 2008, Virot, Tomao et al. 2008) avec la mise au point d'une nouvelle technique : le Soxhlet

assisté par micro-ondes (MIS) qui utilise le d-limonène, un bio-solvant obtenu à partir de zeste de lime, une nouvelle alternative aux solvants classiques. Cette technique donne un meilleur rendement, en moins de temps, avec une récupération optimale du solvant.

III.1.7. Mécanisme de l'extraction par micro-ondes

Le mécanisme de l'extraction par micro-ondes est très différent de celui rencontré dans l'extraction conventionnelle. Ceci car l'extraction se produit à la suite de changements dans la structure cellulaire provoqués par les ondes électromagnétiques. Par ailleurs, selon le solvant utilisé, le chauffage micro-ondes se fera selon deux cas de figures.

III.1.7.1. Solvant absorbant la totalité de l'énergie micro-ondes

Dans le cas d'un solvant absorbant la totalité de l'énergie micro-ondes, le transfert de chaleur dans la matrice solide s'effectue par conduction à partir du solvant. Le gradient de température dans le solide s'établit avec la température la plus basse au cœur de celui-ci. Le mécanisme de l'extraction assistée par micro-ondes est assimilé à l'extraction solide-liquide traditionnelle. L'intérêt des micro-ondes est alors de permettre l'application sur la charge d'une puissance dissipée pouvant être très importante, conduisant à un échauffement rapide, tout en évitant les risques de surchauffe au contact de la double enveloppe, ce qui limite les risques de dégradation [150].

III.1.7.2. Solvant transparent aux micro-ondes

Le deuxième cas de figure est celui d'un solide placé dans un solvant n'absorbant pas les micro-ondes. Le produit solide, s'il possède un facteur de pertes « ϵ » élevé, va absorber la totalité de l'énergie micro-ondes et s'échauffer très rapidement. Le solvant n'est chauffé que par les pertes thermiques issues de la surface du solide.

L'élévation brutale de la température à l'intérieur des structures cellulaires riches en eau provoque une augmentation de la pression interne des cellules, conduisant à leur dislocation et au relargage de leur contenu dans le milieu d'extraction.

Dans le cas de matières premières à faible teneur en eau, ce sont les constituants polarisables du solide qui vont s'échauffer sous l'action des micro-ondes. Un gradient thermique inversé va s'établir dans le produit, avec la température la plus élevée au cœur de celui-ci. Sous l'effet de ce gradient thermique inversé, la vitesse de diffusion des solutés est augmentée.

Une autre interprétation s'appuie sur l'hypothèse d'une micro-ébullition du solvant d'imprégnation dans le volume intra-particulaire. La solution intra-particulaire serait alors expulsée par les micro-volumes gazeux en expansion [151].

III.2. LES ULTRASONS

Les ultrasons sont des ondes vibratoires appartenant à la catégorie des sons inaudibles pour l'Homme, dont la fréquence se situe entre 16 kHz et 10 MHz. Elles sont caractérisées par des grandeurs physiques principales à savoir la fréquence **f** (**Hertz**), la longueur d'onde **λ** (**m**), la vitesse de propagation ou célérité **c** (**m. s⁻¹**) et la puissance **P** (**W**) qui permet de quantifier l'énergie ultrasonore transmise au milieu soumis aux ultrasons.

Le domaine ultrasonore (Fig. 14) est divisé entre des ultrasons de basse fréquence (16 à 100 kHz) et des ultrasons de haute et très haute fréquence (supérieure à 100 kHz et 1 MHz respectivement).

La puissance ultrasonore constitue un critère de distinction qui permet de classer les ultrasons en deux catégories :

✚ Les ultrasons de diagnostic pour lesquels la puissance est faible (**P** inférieure à 1 W, et fréquence de 1 MHz à 10 MHz) ; l'onde vibratoire se modifie en traversant un milieu, ce qui permet de déterminer les caractéristiques physico-chimiques de ce dernier. Cette catégorie d'ultrasons est utilisée pour des applications de contrôle non destructif et de diagnostic médical (imagerie médicale).

✚ Les ultrasons de puissance (**P** supérieure à 1 W, et fréquence de 20 kHz à 1 MHz), le passage de l'onde ultrasonore s'accompagne de phénomènes physiques non linéaires (décapage, dégazage, émulsification), et de transformations chimiques (modification de mécanismes réactionnels, production de radicaux libres...) [152].

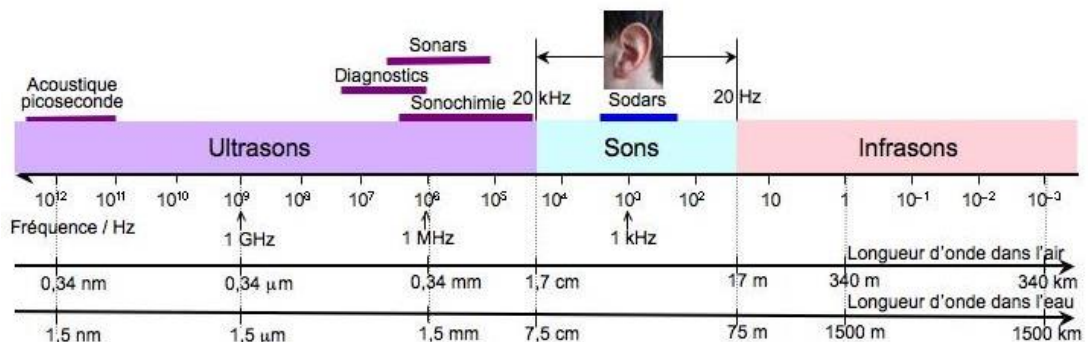


Figure 14 : Spectre vibratoire des ultrasons

III.2.1. Génération des ondes ultrasonores

La création de l'onde ultrasonore nécessite un transducteur (dispositif capable de transformer l'énergie disponible (mécanique ou électrique) en une vibration), un générateur de fréquence et un amplificateur. Il existe trois grands types de transducteurs.

✚ Le sifflet acoustique inspiré du sifflet pour chiens est bien connu. Il est utilisé notamment pour réaliser des opérations d'homogénéisation de mélanges.

✚ La magnétostriction, qui consiste à utiliser la modification de forme d'un alliage métallique sous l'effet d'un champ magnétique, dans le but de produire des ultrasons de très forte puissance. Elle reste néanmoins limitée aux fréquences ne dépassant pas 70 kHz et est actuellement appliquée dans le sonar.

✚ Les céramiques piézo-électriques (notamment PZT : titanate zirconate de plomb), largement utilisée dans la gamme 20 kHz à plusieurs mégahertz. L'effet piézo-électrique se traduit par l'apparition d'une différence de potentiel entre les faces de certains cristaux lorsqu'ils sont soumis à une déformation. Le fait d'appliquer une différence de potentiel alternative entre les deux faces d'un cristal permet de créer une succession de phases de compression et de détente génératrices de mouvement. Dans les applications de laboratoire et dans les systèmes hautes fréquences, le simple collage d'une céramique piézo-électrique sur une paroi métallique est la solution la plus couramment pratiquée. Par contre, dans le cas des montages industriels de puissance, notamment dans le domaine des basses fréquences, c'est l'assemblage triplet qui est utilisé. La vibration est ensuite transmise au milieu réactionnel à travers une paroi ou par immersion de l'émetteur (sonde) [131].

III.2.2. Principe des ultrasons

Lorsqu'une source émet un son dans un milieu (air, liquide ou solide), le son se propage par des ondes sinusoïdales. Le milieu répond à la propagation de ces ondes et les soutient par des vibrations élastiques. Ces vibrations prennent deux formes : la compression et la dépression (Fig. 15) [153]. Au cours du phénomène de compression, les particules du milieu sont comprimées, causant une augmentation de la pression et de la densité du milieu. Au cours de la dépression, les particules se déplacent dans le milieu de manière à provoquer une diminution de la pression et de la densité du milieu.

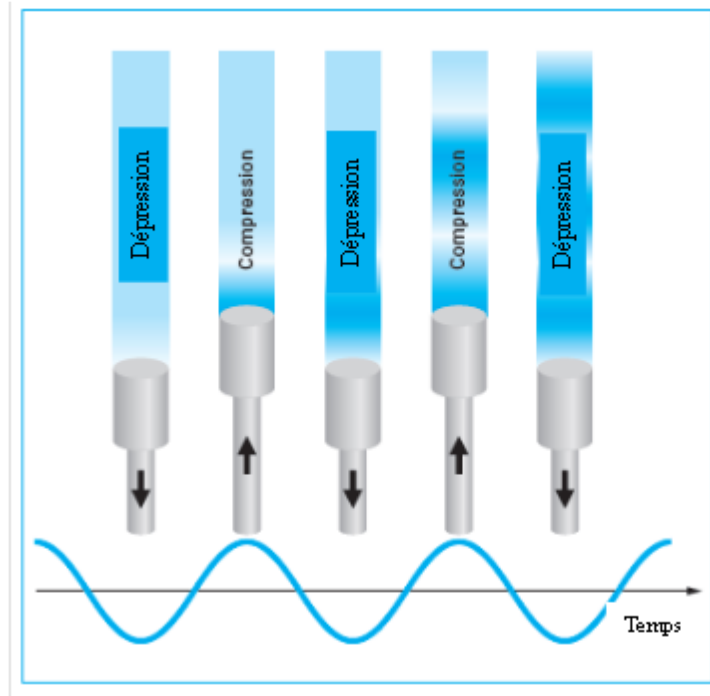


Figure 15 : Transmission de l'onde ultrasonore [131]

Ces changements de pressions du milieu entraînent un phénomène appelé phénomène de cavitation. Il est caractérisé par la formation de bulles de vapeur dans un liquide isotherme, et est obtenu par abaissement de la pression hydrostatique à une valeur inférieure à la tension de vapeur du liquide à la température considérée.

La nature et l'intensité des phénomènes chimiques et physiques associés à la propagation de l'onde ultrasonore, sont étroitement dépendants de la dynamique, de la localisation et du nombre de bulles de cavitation. Ces bulles de cavitation acoustique sont indispensables à la sonochimie.

Dans un liquide soumis à des fluctuations périodiques de pression, les bulles de cavitation se forment à partir d'inclusions de gaz et de vapeur piégés dans les microfissures de surface des parois du réacteur, des particules en suspension et autres impuretés présentes dans le milieu. Lorsqu'une poche de gaz se trouve soumise à une phase de dépression par rapport à la pression hydrostatique moyenne, son volume augmente, et peut donner naissance à une cavité (Fig. 16) [131].

L'évolution de la cavité dépend de son volume initial et du champ de pression qui l'affecte. En effet, pour de faibles valeurs de la pression acoustique, les bulles de petite taille peuvent se dissoudre rapidement ; au contraire, dans un champ de pression oscillant d'intensité forte, les bulles sont instables, et le volume de la cavité fluctue en fonction de la pression.

Dans la bulle, le gaz et la vapeur sont en constante recherche d'équilibre de pression interne. Dans la phase de compression, le volume de la cavité diminue, le gaz se dissout dans le liquide et la vapeur se condense à l'interface. Dans la phase de dépression du cycle, le volume de la cavité augmente par vaporisation du liquide et diffusion de gaz.

Les cavités en croissance peuvent cependant coalescer, pour former des bulles de gros volume qui montent éclater à la surface du liquide, c'est le principe du dégazage ultrasonore. Le volume de la cavité peut aussi augmenter jusqu'à atteindre une valeur critique pour laquelle elle entre en résonance avec l'onde incidente. Le volume s'accroît fortement dans la phase de dépression (10 à 100 fois le volume initial) et la bulle s'effondre brutalement au début de la phase de compression. La compression rapide, d'une durée comprise entre 0,1 μ s et 10 μ s, s'effectue de manière adiabatique, ce qui conduit, au stade final de l'implosion dans la bulle résiduelle, à des conditions extrêmes de température et de pression. Cette implosion entraîne la production de micro jets dirigés vers la surface du solide à traiter ayant pour conséquence la destruction de sa structure et la libération des composés à extraire [131].

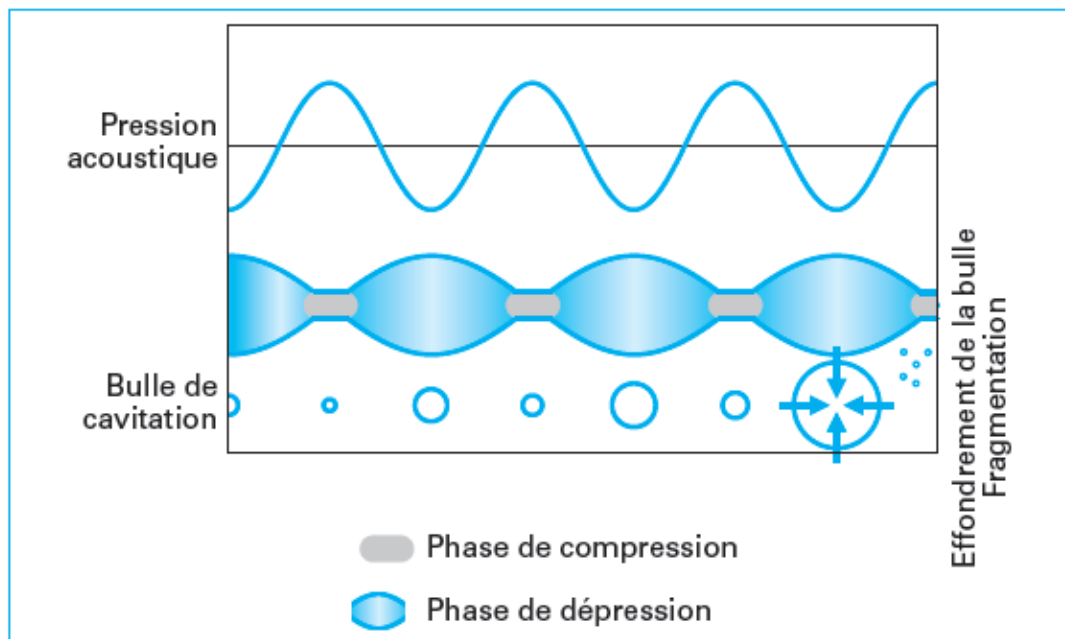


Figure 16: Croissance et implosion d'une bulle de cavitation

[131]

III.2.3. Domaines d'utilisation des ultrasons

Les ultrasons trouvent des applications dans divers domaines.

III.2.3.1. Le repérage d'obstacles

C'est en 1917, que Langevin met au point le premier projecteur ultrasonore permettant d'obtenir des faisceaux suffisamment intenses et bien dirigés destiné à détecter les sous-marins ennemis. Le principe de cette méthode est simple : les ultrasons se réfléchissent sur un obstacle et reviennent à leur point de départ en produisant un écho. Connaissant, d'une part, le temps séparant l'émission de l'onde et la réception de l'écho, d'autre part la vitesse des ultrasons dans l'eau de mer (environ 1500 m. s^{-1}), il est facile de déduire la distance de l'obstacle dans la direction du faisceau. Cette méthode a été adaptée à d'autres problèmes : repérage d'obstacles tels que les icebergs, les bancs de poissons, le sondage, la téléphonie sous-marine. Lors de la seconde guerre mondiale, le problème du repérage des sous-marins est redevenu d'actualité et de nombreux appareils appelés « asdics » puis « sonars » ont été construits [94].

Cette propriété de détection a été étendue à la fabrication de cannes spéciales pour non-voyants, composées d'un émetteur d'ultrasons et d'un récepteur qui capte les ondes réfléchies par un obstacle et les transforme en sons audibles.

III.2.3.2. Utilisation des ultrasons en médecine

Les ultrasons sont utilisés dans le diagnostic et le traitement de différentes affections.

Dans un but diagnostique, les ultrasons sont employés par :

- ✚ L'échographie, qui explore les organes internes mous ou remplis de liquide par la réflexion et l'analyse d'un faisceau d'ultrasons,

- ✚ Le doppler ; qui est une technique qui évalue la vitesse de la circulation artérielle et veineuse au moyen d'une sonde émettrice d'ultrasons qui se réfléchissent sur les globules rouges puis sont recueillis par un récepteur situé sur la même sonde.

Dans un but thérapeutique, les ultrasons sont exploités dans le traitement symptomatique d'affections des tissus mous (muscles, ligaments, tendons). Cette technique, appelée ultrasonothérapie, qui fait appel à des ondes de haute fréquence, permet de réduire l'inflammation en améliorant la circulation locale. Les ultrasons sont également utilisés par une technique, appelée lithotripsie, pour fragmenter des calculs, surtout urinaires, par voie externe [154].

Au point de vue médical, des succès ont déjà été obtenus dans le traitement des névralgies, de certains spasmes d'origine neurovégétative, et de certaines formes d'artériosclérose. Les ultrasons ont également été utilisés pour déterminer des lésions

localisées dans certains organes ou tissus (les ultrasons sont plus ou moins absorbés durant leur trajet à travers les tissus humains). Cette méthode a notamment été employée pour la recherche d'anomalies dans la boîte crânienne, au niveau des cordes vocales, pour l'observation de l'œil et pour des observations gynécologiques (notamment en début de grossesse) [155-157].

III.2.3.3. Utilisation industrielle

En métallurgie, les ultrasons sont utilisés pour le dégazage des métaux, la détection de défauts, l'usinage et la soudure de certains matériaux [158]. Ils sont également employés pour la déflagration d'explosifs commandée à distance, le nettoyage de certains corps et la soudure entre elles de matières plastiques souples ou rigides [159].

III.2.3.4. Utilisation dans l'industrie agroalimentaire

Le marché de l'industrie agroalimentaire est soumis à des remises en questions permanentes et est constamment à la recherche de technologies innovantes visant à produire des produits non seulement sains microbiologiquement mais avec une durée de conservation longue et ce sans pour autant détériorer la fraîcheur et la qualité organoleptique des produits.

Traditionnellement, les traitements thermiques sont utilisés pour produire des produits alimentaires sûrs. La pasteurisation de jus, du lait, de la bière et du vin est un processus commun dans lequel le produit final a une durée de conservation de quelques semaines (généralement sous réfrigération). Cependant, les vitamines, le goût, la couleur, et d'autres caractéristiques sensorielles sont réduites avec ce type de traitement. En effet, une température élevée est responsable de ces effets et peut être à l'origine de la perte de constituants nutritifs et des changements de saveur, de goût et de texture, ce qui crée souvent le besoin d'additifs afin d'améliorer le produit [160].

Ainsi, l'un des défis de la science alimentaire aujourd'hui est de développer de nouvelles technologies qui peuvent pallier à cette détérioration et assurer de longues durées de conservation. Parmi elles, nous pouvons citer le dégazage de liquides alimentaires, l'induction de réactions d'oxydation / réduction, l'extraction des enzymes et des protéines, l'inactivation des enzymes et des micro-organismes, et l'induction de processus de cristallisation [161-164].

Les ultrasons à faible intensité sont utilisés dans la stimulation des cellules et des enzymes vivantes, le nettoyage de la surface des aliments, l'extraction assistée par ultrasons, la cristallisation de graisses et de sucres, la destruction des mousses, l'extraction d'arômes, l'émulsification, la filtration, le séchage, le gel et l'attendrissage de la viande [153, 165], ainsi que la précipitation de poudres aéroportées. Ils sont également utilisés pour la localisation des corps étrangers tels

que le verre, les résidus organiques, ou des infections bactériennes dans les aliments solides et liquides, même après emballage des aliments [166]. D'autres applications comprennent la caractérisation de la structure cellulaire de la pâte précuite pour obtenir des prédictions sur la qualité du produit cuit [167].

Dans le domaine de l'extraction de produits bioactifs à partir de coproduits agroalimentaires, l'amélioration des rendements d'extraction par l'application d'ultrasons à diverses étapes des processus a été largement démontré par les scientifiques [168-171].

CHAPITRE IV :
LES PLANS D'EXPERIENCES

CHAPITRE IV : LES PLANS

D'EXPERIENCES

La modélisation des processus est une opération fondamentale. Elle permet de rendre compte du comportement d'un système par la mise au point de modèles mathématiques mettant en relation des variables d'entrée et des variables de sortie. Grâce à ces modèles, l'expérimentateur peut entreprendre des études d'optimisation, faire des prévisions, et formuler des recommandations [172].

Les variables d'entrée peuvent être des paramètres opératoires liés aux procédés, ou des paramètres intrinsèques liés aux produits. Les variables de sorties sont de deux types : quantitatifs (par exemple des rendements), ou qualitatifs (propriétés des produits) [173]. Les plans d'expériences constituent un des outils utilisés dans les études de modélisation.

IV.1. LES PLANS D'EXPERIENCES

La méthode des plans d'expériences est une ancienne technique mise au point au début du siècle dernier grâce travaux de Fisher en 1925 [174]. Les premières applications développées en agronomie, ont vite montré leur intérêt, notamment la réduction du nombre d'essais lorsque le nombre de paramètres à étudier est important. Avec l'avènement de l'informatique et le développement d'outils de calcul puissants, les plans d'expériences ont pris un essor considérable et trouvent des applications dans divers domaines.

IV.1.1. Définitions

Un **plan d'expériences** est un ensemble d'essais organisés pour étudier l'effet d'un ou plusieurs facteurs sur une ou plusieurs réponses données [173].

Un **Facteur** représente la variable étudiée. Il peut être de type continu ou discret.

Une **Réponse** est le résultat d'un essai.

Un **Facteur est significatif** si sa modification entraîne une modification de la réponse. Un facteur non significatif n'a aucun effet sur la réponse ou son effet est trop faible pour pouvoir être quantifié.

Les Niveaux d'un facteur indiquent les valeurs que prend ce facteur au cours des essais [174].

L'Interaction traduit la notion de non additivité des facteurs. Il y a interaction entre les facteurs lorsque l'effet d'un facteur dépend de la combinaison des niveaux des autres facteurs, les facteurs ne sont donc pas indépendants [175].

IV.1.2. La méthode des plans d'expériences

La spécificité de cette méthode est qu'elle permet de faire varier les niveaux de tous les facteurs à la fois à chaque essai, mais de manière programmée. Le fait de faire varier tous les facteurs à la fois n'est pas un inconvénient mais au contraire offre de nombreux avantages parmi lesquels [175] :

- ✚ diminution considérable du nombre d'essais ;
- ✚ possibilité d'étudier un très grand nombre de facteurs ;
- ✚ détection des éventuelles interactions entre facteurs ;
- ✚ modélisation très aisée des résultats ;
- ✚ interprétation rapide et sans équivoque ;
- ✚ détermination des résultats avec une bonne précision ;
- ✚ amélioration de la qualité et réduction des coûts.

L'utilisation d'un plan d'expériences permet donc d'élaborer une stratégie dans le choix des méthodes d'expérimentation. Le traitement des résultats se fait à l'aide de la régression linéaire multiple qui est une méthode d'analyse de données quantitatives. Elle a pour but de mettre en évidence la liaison pouvant exister entre la réponse et les facteurs influents du système étudié.

IV.2. LES PLANS COMPOSITES

Les plans composites sont parmi les plans du second degré les plus employés. Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé le plan composite centré. Il permet d'obtenir un maximum d'informations sur le procédé étudié à partir d'un nombre minimal d'essais possibles. L'étude multi variée permet l'identification des interactions entre les variables ainsi que leurs effets individuels et quadratiques et fournit une exploration complète du domaine expérimental investigué.

L'application de ce type de plan est un moyen pratique pour optimiser un processus à trois niveaux (-1, 0 et +1) (Goupy, 2005; Maurice, 1997). Il se compose de trois parties principales :

- 1. Le plan factoriel :** C'est un plan factoriel complet ou fractionnaire à deux niveaux par facteur. Il permet de former la base du plan composite à partir

des variables codées à leurs niveaux hauts et bas. Selon le nombre de facteurs étudiés, les points des essais sont situés aux sommets de carrés ou de cubes.

2. **Les points en étoile :** Ils sont sur les axes qui représentent les facteurs et sont situés à une même distance (α) du centre du domaine d'étude. Ces points expérimentaux permettent de définir les paramètres quadratiques du modèle mathématique (effet pouvant impliquer la courbure des surfaces de réponse). La valeur de (α) est calculée de manière à obtenir une iso-variance par rotation. Ainsi, les réponses calculées avec le modèle issu du plan composite centré (PCC) auront une erreur de prévision identique pour tous les points équidistants du centre du domaine expérimental.
3. **Les points au centre du domaine d'étude :** Ces points dont le nombre est fixé par l'expérimentateur, permettent d'estimer la répétabilité des essais.

Le nombre total N d'essais à réaliser est la somme des :

$$\left. \begin{array}{l} - \text{Essais du plan factoriel : } n_f = 2^k \\ - \text{Essais du plan en étoile : } n_\alpha = 2k \\ - \text{Essais au centre : } n_0 \end{array} \right\} N = n_f + n_\alpha + n_0 \quad (1)$$

k est le nombre de paramètres ;

La valeur de α est fixée par la méthode statistique, selon le nombre de paramètres expérimentaux. Elle peut être calculée par la relation suivante :

$$\alpha = \sqrt[4]{n_f} \quad (2)$$

Le nombre de niveaux pour chaque paramètre est donc cinq ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$).

Si les points en étoile sont sur les faces du cube, ($\alpha = 1$), on parle de plan composite centré à faces centrées ou CCFC. S'ils sont à l'extérieur du domaine cubique, on parle de plan composite centré extérieur ou CCE. Le plan composite centré est représenté sur la Figure 17.

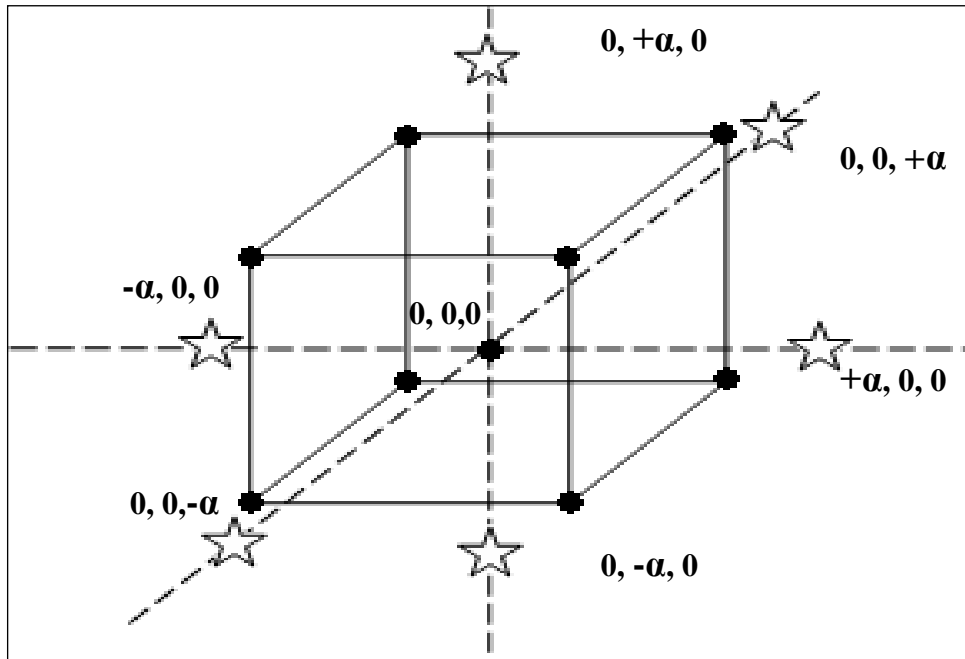


Figure 17 : Représentation du plan composite centré en trois dimensions

Un logiciel statistique permet la réalisation de différentes opérations fondées sur une analyse de la variance des résultats expérimentaux, ce qui va permettre de proposer un modèle polynomial comme présenté ci-après.

$$Y = b_0 + b_i X_i + b_{ij} X_i X_j + \dots \dots \alpha_{ij \dots n} X_i X_j \dots X_n + e \quad (3)$$

Où :

- **Y** : représente la réponse ou critère d'optimisation étudié;
- **b₀** : représente la moyenne des réponses obtenues aux répliques du centre du domaine expérimental;
- **b_i** : représente le nombre de variables impliquées dans le modèle;
- **b_{ij}** : sont des constantes représentant les coefficients de régression du modèle mathématique adopté. Ils ne sont pas connus et sont déterminés à partir du traitement des résultats expérimentaux;
- **X_i** : illustre les variables opératoires impliquées dans le modèle mathématique,
- **X** représente le niveau attribué au facteur *i* par l'expérimentateur afin de réaliser un essai;
- **e** : représente l'erreur expérimentale.

Cette analyse de la variance permet de déterminer les divers coefficients de régression du modèle mathématique, et d'évaluer si une variable quantitative est significativement influente ou non. Elle consiste à tester une hypothèse nulle (les moyennes sont égales entre elles) contre l'hypothèse alternative (au moins une moyenne différente). Le principe est alors de comparer la variance de diverses répétitions d'un échantillon à la variance des moyennes entre tous les échantillons.

Le rapport entre ces deux variances est appelé ratio-*F*. Cette valeur est comparée à une table statistique permettant l'acceptation ou le rejet de l'hypothèse nulle de départ. Pour chacun des paramètres, la significativité des effets linéaires, quadratiques et des interactions intervenant entre les variables est ainsi testée puis représentée sur un diagramme dit **Diagramme de Pareto**. Ces tests permettront de juger de la pertinence des variables.

L'adéquation du modèle par rapport aux mesures expérimentales pourra être exprimée à l'aide d'un coefficient de détermination **R^2** . Le modèle sera d'autant plus adapté que la valeur de R^2 sera proche de 1.

Enfin, le modèle mathématique pourra être représenté graphiquement à l'aide de surfaces de réponses permettant de visualiser, en fonction des effets des facteurs, l'évolution de la variable réponse étudiée ainsi que les zones où elle est maximale [176].

PARTIE II :

MATERIELS ET METHODES

PARTIE II : MATERIELS ET **METHODES**

Dans cette partie, nous allons présenter les différentes installations, procédures, et méthodes de calculs utilisées pour réaliser notre étude.

Le concept de bio-raffinerie adopté pour l'extraction à partir des écorces d'orange de bio-composés à haute valeur ajoutée à savoir l'huile essentielle, les polyphénols, les pectines et les caroténoïdes a été réalisé selon la procédure représentée à la Figure 18.

Les écorces d'oranges obtenus après pressage du fruit et récupération du jus, sont récoltées et soumis à l'extraction des caroténoïdes, de l'huile essentielle.

L'extraction de l'huile essentielle est effectuée sur matrice humide selon deux procédés innovants : L'Hydro-diffusion Assistée par Micro-ondes et Gravité (MHG), L'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes (SFME).

Le d-limonène, composé majoritaire de l'huile essentielle est ensuite utilisé pour l'extraction des caroténoïdes.

L'extraction par MHG génère un extrait aqueux et un résidu solide. L'extrait aqueux, contenant une forte concentration en polyphénols est alors évaporé afin de séparer ces derniers de l'eau interstitielle de la plante.

L'eau interstitielle est ensuite recyclée et utilisée pour l'extraction des pectines à partir du résidu solide issu de l'extraction par MHG.

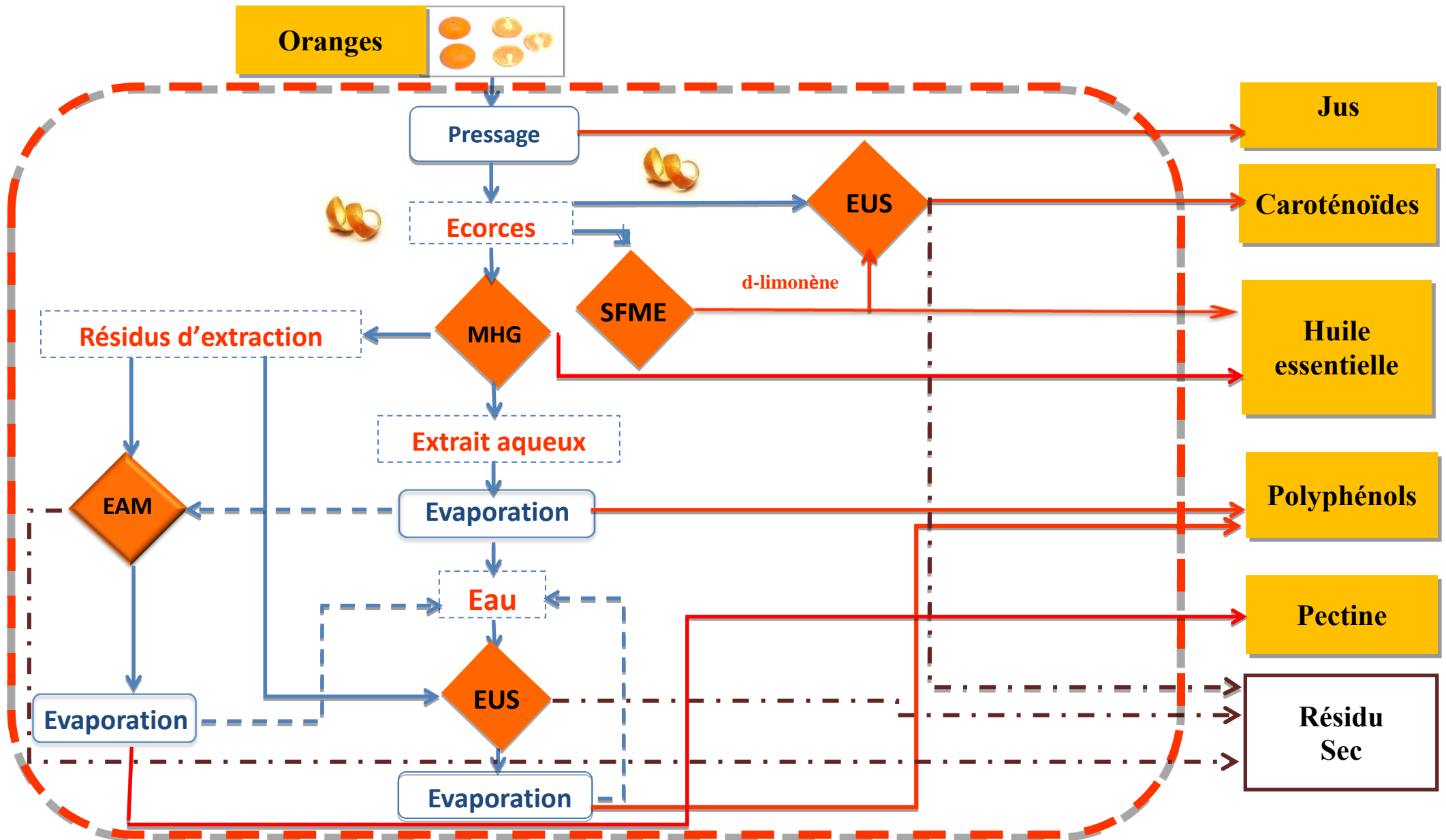


Figure 18 : Protocole de traitement des écorces d'orange selon le concept de **BIO-RAFFINERIE**

II.1. MATIERE VEGETALE

Cette étude a été réalisée sur des écorces d'orange (*Citrus cinensis* L.osbeck) collectées après extraction du jus entre le mois de décembre et février. Elle provient de la région de Boufarik située à environ 30 km au sud-Ouest d'Alger.

Afin d'éliminer l'influence des paramètres autres que ceux étudiés, chaque série d'essais a été réalisée sur un même lot de plante échantillonné selon la méthode de quartage qui consiste à étaler le lot de plante sur une surface plane en forme de carré qui sera par la suite divisé par des diagonales en quatre lots triangulaires. Les triangles opposés seront retenus pour former le nouvel échantillon. Ce dernier sera étalé et partagé comme précédemment et ainsi de suite jusqu'à l'obtention de plusieurs échantillons homogènes. Les échantillons sont ensuite conservés dans les mêmes conditions.

II. 2. EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE

Afin d'identifier le procédé le plus efficace pour l'extraction de l'huile essentielle d'orange et ce dans un souci d'obtenir les meilleurs rendements avec un cout minimum, trois méthodes d'extractions ont été utilisées :

- L'Entraînement à la Vapeur d'Eau (EV),
- L'Hydro-diffusion Assistée par Micro-ondes et Gravité (MHG),
- L'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes (SFME).

L'étude de la cinétique d'extraction et l'optimisation des paramètres opératoires (débit de vapeur et puissance micro-ondes) ont été réalisées pour chaque procédé d'extraction. La comparaison entre ces 3 procédés a porté sur le rendement en huile essentielle et la durée d'extraction. Pour tous les essais, la masse de matière végétale a été fixée à 400 g, valeur imposée par les dimensions du réacteur utilisé.

II. 2. 1. Extraction par Entraînement à la Vapeur d'Eau «EV»

Le dispositif expérimental utilisé pour l'entraînement à la vapeur d'eau est représenté sur la Figure 19. Celui-ci comprend un ballon d'une capacité de deux litres

servant à produire la vapeur d'eau avec un débit variant de 0 à 8 g/min. Ce ballon est surmonté d'un réacteur en verre contenant la matière végétale et relié à un réfrigérant. La vapeur produite dans le ballon passe dans le réacteur à travers la matière végétale, entraîne l'huile essentielle, et se dirige vers un réfrigérant ou elle se condense. Le mélange huile essentielle-eau est ensuite recueilli dans un vase Florentin. L'huile essentielle est récupérée après décantation, séchée avec du sulfate de sodium anhydre et stockée à 4 °C jusqu'à utilisation.

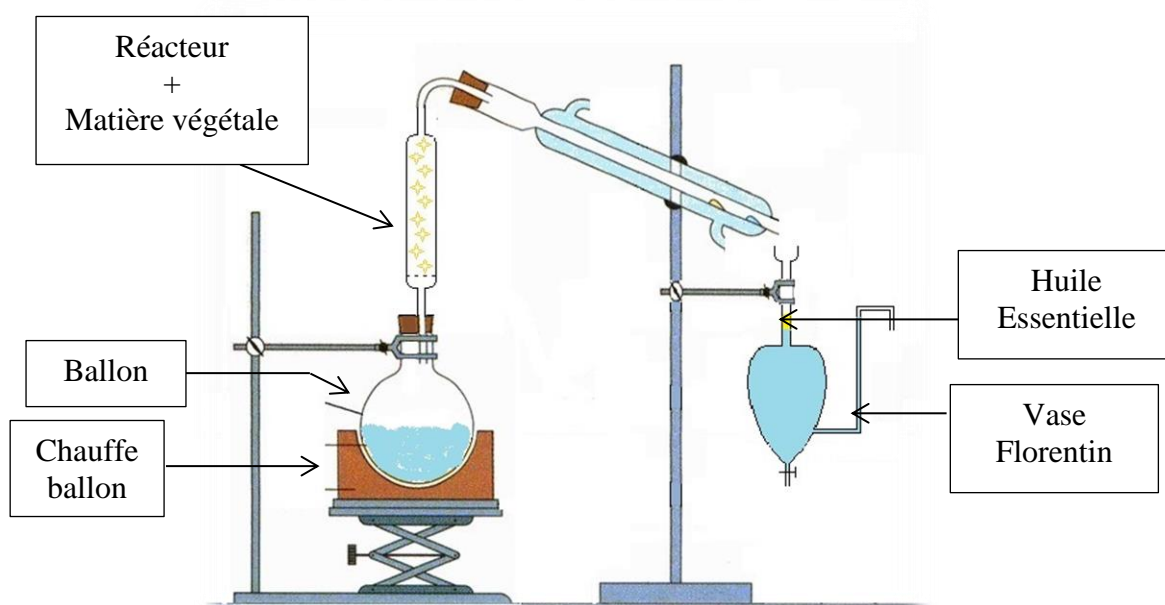


Figure 19 : Dispositif de l'Extraction par Entraînement à la Vapeur d'Eau

II. 2. 2. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes «SFME»

L'extraction par SFME a été réalisée dans un four micro-ondes ménager avec une puissance de sortie réglable variant de 200 à 700 W et fonctionnant à une fréquence de 2450 KHz. Les résultats obtenus ont ensuite été confirmés à l'aide d'un four micro-ondes de laboratoire NEOS-GR au sein du laboratoire GREEN de l'Université d'Avignon. Le dispositif expérimental (Fig. 20), est constitué d'un réacteur (contenant la plante) placé dans le four micro-ondes et relié à un dispositif Clevenger. Celui-ci permet la récupération de l'huile essentielle après condensation du

mélange (vapeur d'eau – huile essentielle) ainsi que le cohobage (recyclage) de l'eau pour maintenir constante l'humidité de la plante dans le réacteur. L'huile essentielle est ensuite recueillie, séchée avec du sulfate de sodium anhydre et stockée à 4 °C jusqu'à utilisation.

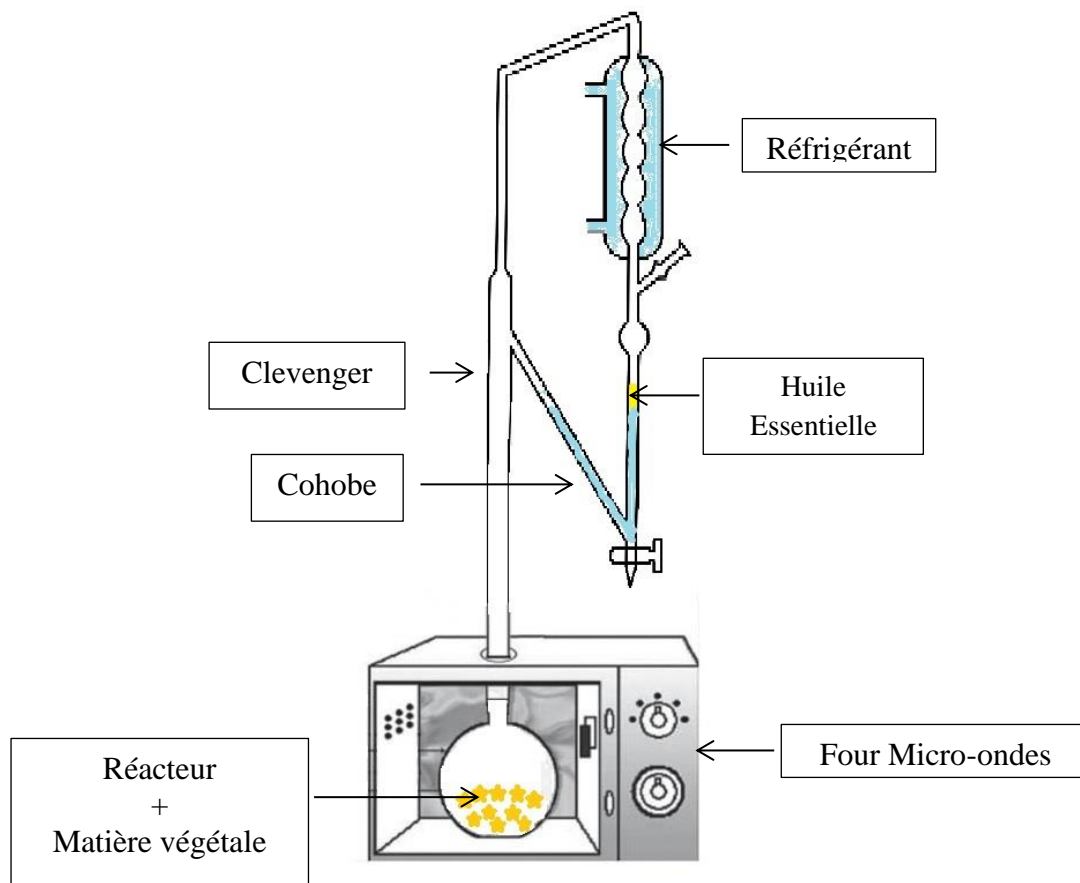


Figure 20 : Dispositif de l'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes

II.2.3. Extraction par Hydro-diffusion Assistée par Micro-ondes et Gravité «MHG»

L'extraction de l'huile essentielle par hydro-diffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG) a été effectuée en utilisant le même dispositif que pour l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes. La différence entre les deux procédés réside dans le fait que dans ce cas, le dispositif est renversé afin de faire intervenir la gravité dans l'extraction de l'huile essentielle (Fig. 21).

L'huile essentielle est recueillie, séchée avec du sulfate de sodium anhydre et stockée à 4 °C jusqu'à utilisation. Tandis que l'eau de constitution est recyclée afin d'être utilisée comme solvant pour l'extraction des polyphénols et des pectines. Les résidus de matière végétale sont séchés à l'air libre avant d'être utilisés comme matière première pour l'extraction des polyphénols et des pectines.

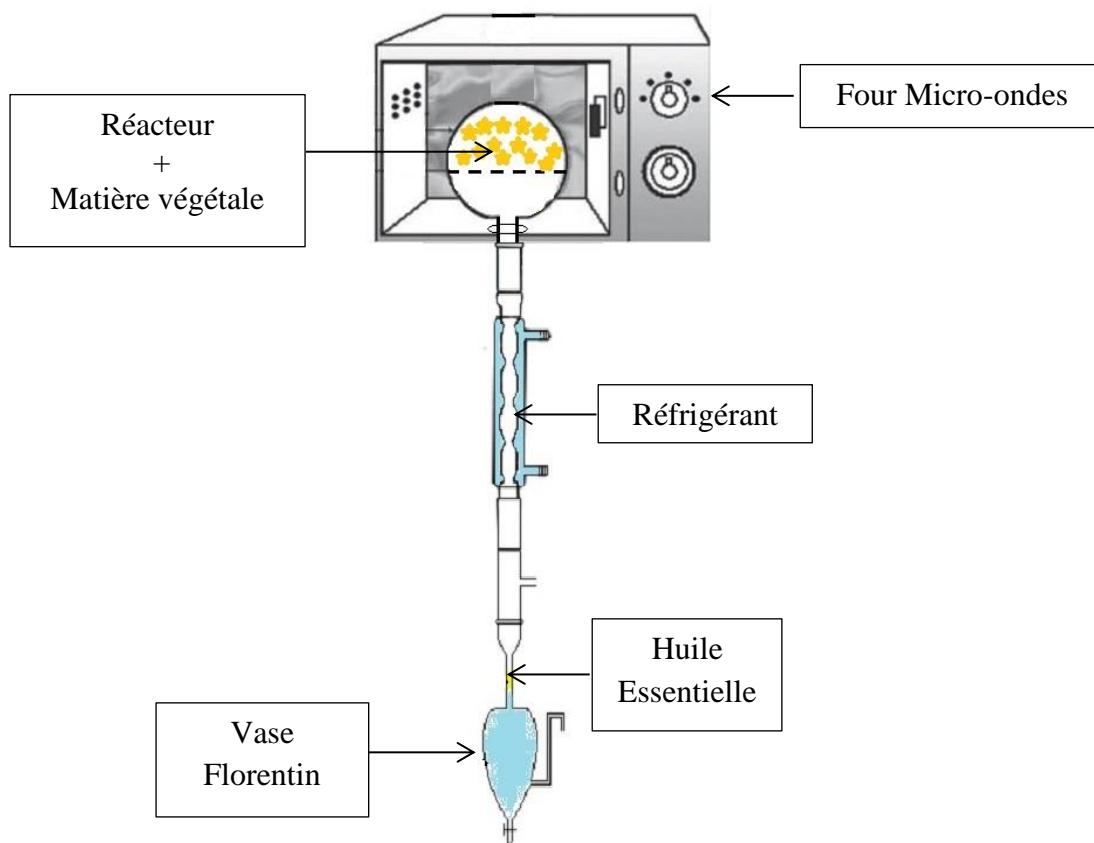


Figure 21 : Dispositif de l'Extraction par Hydro-diffusion assistée par Micro-ondes et Gravité (MHG)

II. 2. 4. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle récupérée et la masse de matière végétale sèche utilisée. Il est calculé par la relation suivante :

$$\mathbf{R_{HE}} (\%) = \frac{\mathbf{M_{HE}}}{\mathbf{M_S}} \times 100 \quad (4)$$

Où : M_{HE} est la masse d'huile essentielle (g),

M_S , la masse de la matière végétale sèche (g).

Avec :

$$M_S = (1 - H)M_H \quad (5)$$

Où : H est le taux d'humidité de la plante (%), déterminé à l'aide d'un dessiccateur de marque KERN DBS 60-3 (Annexe), et M_H , la masse de plante humide (g).

II. 3. EXTRACTION DES POLYPHENOLS

L'extraction des polyphénols a été effectuée en utilisant les résidus et l'eau interstitielle de la plante engendrés par l'extraction de l'huile essentielle par MHG. Cette eau est utilisée comme solvant d'extraction. Deux procédés ont été utilisés :

- L'extraction assistée par ultrasons (EUS),
- L'extraction conventionnelle ou macération (EC).

Pour tous les essais, la durée d'extraction et le rapport solide/ solvant, déterminés par une étude préliminaire ont été fixés à 30 min et 1/10. La taille des particules paramètre important pouvant affecter l'extraction des polyphénols, a été fixée selon les données de la littérature, à 2 cm² [177].

II. 3. 1. Extraction assistée par ultrasons «EUS»

L'extraction assistée par ultrasons des polyphénols a été effectuée dans un réacteur à ultrasons de type PEX1 (REUS, Contes, France) avec des dimensions intérieures de 14 x 10 cm et d'une capacité maximale de 1 litre. L'appareil est équipé d'un transducteur situé à sa base, fonctionnant à une fréquence de 25 kHz avec une puissance d'entrée maximale de 150 W. Le réacteur est muni d'une double paroi qui permet le contrôle de la température d'extraction grâce à un système de refroidissement et de chauffage (Fig.22).

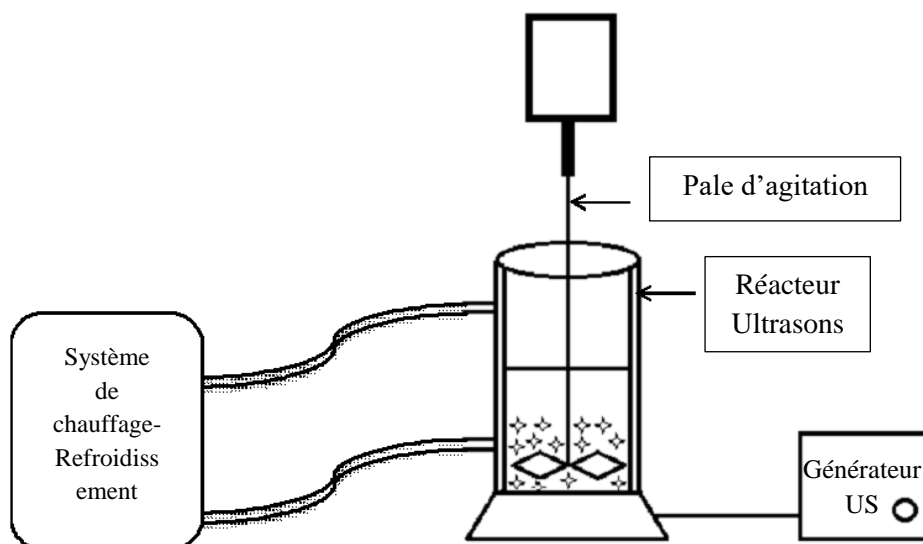


Figure 22 : Dispositif de l'Extraction assistée par Ultrasons des polyphénols

II. 3. 2. Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons «EUS»

Afin d'évaluer les performances de l'extraction assistée par ultrasons des composés phénoliques, une optimisation par plan d'expériences des paramètres opératoires a été effectuée en utilisant la méthode des surfaces de réponse. Le type de plan adopté pour déterminer les conditions optimales d'extraction est un plan composite face centrée. Dans cette conception, les points en étoiles sont au centre de chaque face de l'espace factoriel, donc $\pm \alpha = \pm 1$. Les paramètres opératoires choisis sont la température **T** (°C) notée (**A**) et la puissance ultrasonore **P** (W), exprimée en intensité ultrasonore **UI** (W. cm⁻²) notée (**B**). Les valeurs limites de cette dernière ont été fixées en se basant sur les valeurs maximales et minimales délivrées par l'appareillage, alors que le domaine de variation de la température a été fixé entre 20 et 60 °C. La valeur de 60 °C a été choisie pour vérifier une éventuelle dégradation des polyphénols. Le paramètre à optimiser est le rendement en polyphénols totaux (**Y_{PPT}**) exprimé en mg équivalent d'acide gallique/100 g de matière végétale. La durée d'extraction a été fixée à 30 min suite à des essais préliminaires. Un total de 12 combinaisons différentes, y compris quatre répétitions au point central, désignées chacune par la valeur codée 0, ont été choisies dans un ordre aléatoire. La construction du plan expérimental et le traitement des résultats obtenus ont été réalisés en utilisant le logiciel STATGRAPHICS PLUS (Version 5.1, Statistiques Graphiques Corporation, Rockville, Etats-Unis, 2000).

II. 3. 3. Calcul de l'Intensité Ultrasonore

Afin de tenir compte de la fraction d'énergie transformée en chaleur dissipée dans le milieu, des mesures calorimétriques ont été effectuées pour évaluer la puissance réelle des ultrasons appliqués. Les valeurs de puissance ont ensuite été calculées en utilisant l'équation (6) [178].

$$P = m C_p \frac{dT}{dt} \quad (6)$$

Où m est la masse de solvant (g), C_p la capacité calorifique du solvant à pression constante ($J.g^{-1}.K^{-1}$), et dT/dt la variation de température en fonction du temps.

La puissance des ultrasons a ensuite été exprimée en intensité ultrasonore (**UI**), calculée en utilisant l'équation (7) [178].

$$UI = \frac{4P}{\pi D^2} \quad (7)$$

Où UI est l'intensité ultrasonore ($W. cm^{-2}$), P la puissance ultrasonore (W) calculée par l'équation 6, et D le diamètre intérieur (cm) du réacteur à ultrasons.

II. 3. 4. Extraction conventionnelle «EC»

Dans le but d'évaluer la contribution des ultrasons dans la récupération des polyphénols, ces derniers ont été extraits en utilisant le procédé conventionnel à savoir l'extraction en batch ou macération. Les essais ont été réalisés dans les conditions opératoires optimales déterminées pour l'extraction assistée par ultrasons en utilisant le même dispositif expérimental sans faire intervenir les ultrasons.

II. 3. 5. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été mesurée par une méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui oxyde les composés phénoliques. Il est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), qui est réduit lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}).

Pour ce faire, 20 µL d'extrait sont mélangés avec 2 mL de réactif de Folin-Ciocalteu, et 1 mL de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7 %). Le mélange est laissé au repos à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante puis l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 760 nm. Le rendement en polyphénols totaux rapporté à une courbe d'étalonnage, est exprimé en mg d'acide gallique/ 100 g de matière végétale (MV).

II. 3. 6. Analyse HPLC

Afin d'identifier et de quantifier la composition phénolique des extraits aqueux obtenus par les deux procédés d'extraction utilisés, des analyses par HPLC ont été réalisées en utilisant un chromatographe Waters (Milford, MA). Le système HPLC comprend une pompe Waters 600E, un échantillonneur automatique Waters 717, et un détecteur à réseau de photodiodes Waters 2996. Les pompes HPLC, l'échantillonneur automatique, la température de la colonne, et le système de réseau de diodes sont surveillés et contrôlés par le logiciel d'analyses des données chromatographiques Waters Empower 2. La longueur d'onde utilisée pour la quantification des glycosides flavanones avec le détecteur à diode est de 280 nm. La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne Purospher Star RP-18 (250 mm x 4 mm ID, taille de particules 5 µm de VWR), avec une colonne de garde de RP18 (4 mm x 4 mm ID, taille 5 µm de VWR). La colonne chromatographique ainsi que la colonne de garde ont été maintenues à 37 °C et le débit a été fixé à 1 mL. min⁻¹. La phase mobile est composée de deux solvants : 0,5 % d'acide acétique (A) et 100 % d'acétonitrile (B). Le gradient de solvant en volume est le suivant : 10-30 % de B en 20 min. Il a été porté à 35 % de B à 25 min et a été maintenu à 35 % de B pendant 5 min. Le volume d'injection était de 20 µL. Les analyses ont été effectuées au moins trois fois et les valeurs moyennes ont été rapportées. La quantification a été réalisée en utilisant la méthode de l'étalon externe et les concentrations finales ont été calculées en mg / 100 g de matière végétale (MV).

II. 4. EXTRACTION DES CAROTENOÏDES

Dans cette partie de l'étude, notre intérêt s'est porté sur l'utilisation du d-limonène comme solvant de substitution aux solvants pétrochimiques, plus particulièrement l'hexane. Ce choix a été dicté par plusieurs paramètres : sa présence avec une teneur de plus de 90 % dans l'huile essentielle d'orange, plusieurs travaux ont mis en évidence son efficacité en tant que solvant d'extraction [179, 180], et le dernier paramètre qui représente l'un des objectifs de notre étude et qui est l'application du concept de bio-raffinerie aux sous-produits de l'orange. Toutes ces raisons nous ont donc incitées à le tester pour l'extraction des caroténoïdes à partir des écorces d'oranges. Pour cela, deux procédés d'extraction ont été utilisés :

- L'Extraction assistée par Ultrasons (EUS);
- L'Extraction Conventiennelle ou macération (EC).

II. 4. 1. Extraction assistée par Ultrasons «EUS»

L'extraction assistée par ultrason des caroténoïdes a été menée à l'aide du dispositif expérimental indiqué sur la Figure 23. Cette installation comprend un homogénéisateur à ultrasons de type UP 200 Ht (Hielscher, Contes, France) fonctionnant à une fréquence de 26 kHz et une puissance de sortie maximale de 200 W. Le diamètre de la sonde ultrasons utilisée est de 7 mm. La température d'extraction a été contrôlée en utilisant un réacteur à double parois relié à un système de refroidissement.

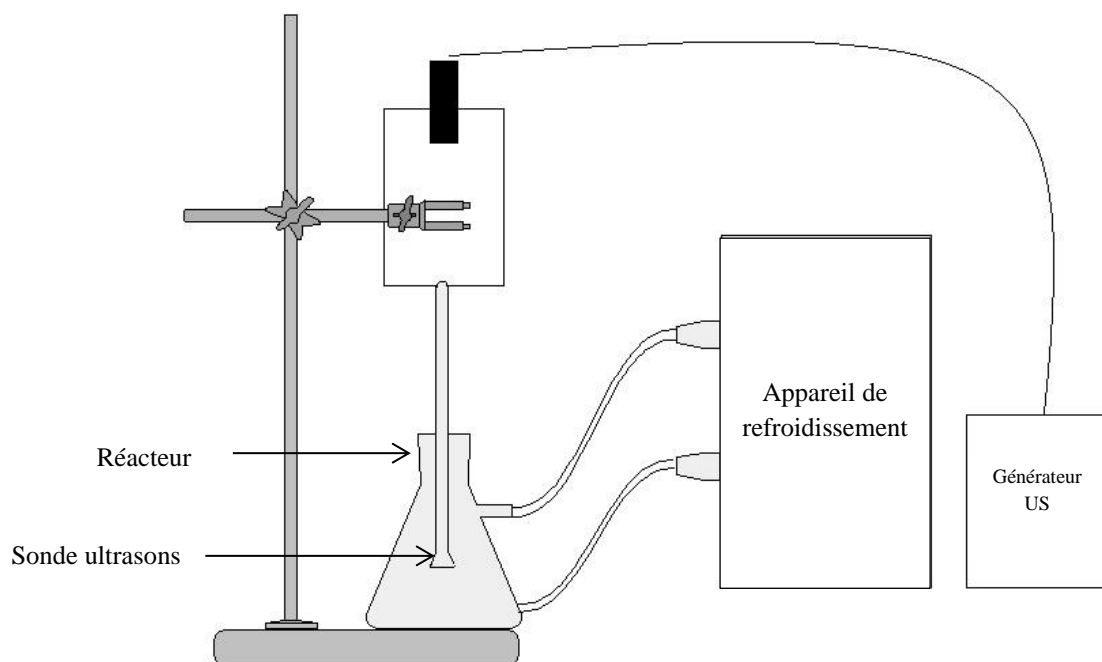


Figure 23 : Dispositif de l'Extraction assistée par Ultrasons des caroténoïdes

II. 4. 2. Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons «EUS»

L'optimisation de l'extraction assistée par ultrasons des caroténoïdes a été réalisée en deux étapes : une étude paramétrique complétée par une optimisation par plan d'expériences.

L'étude paramétrique a porté sur l'influence sur le rendement en caroténoïdes de deux paramètres importants dans l'extraction : le ratio solide/solvant et la puissance ultrasonore.

L'optimisation par plan d'expériences a été menée en utilisant la méthodologie des surfaces de réponse. La procédure adoptée est la même que celle utilisée pour l'extraction des polyphénols. Les paramètres opératoires choisis sont : la température **T** (°C) notée (**A**), l'intensité ultrasonore **IU** (W. cm⁻²) notée (**B**) et le temps **t** (min) notée (**C**). Les valeurs limites de l'intensité ultrasonore ont été choisies sur la base des résultats de l'étude paramétrique préalablement effectuée. La température a été fixée entre 20 °C et 50 °C, cette dernière valeur a été choisie afin de vérifier une éventuelle dégradation des caroténoïdes. Le temps d'extraction a été fixé entre 5 min et 35 min. Le paramètre d'optimisation choisi est la teneur en caroténoïdes ($C_{\text{caroténoïdes}}$) exprimée

en mg équivalent β -carotène / g de matière végétale (MV). Un total de 18 combinaisons différentes, y compris quatre répétitions au point central, désignées chacune par la valeur codée 0, ont été choisies dans un ordre aléatoire. Les résultats expérimentaux ont été traités en utilisant le logiciel STATGRAPHICS PLUS (Version 5.1, Statistiques Graphiques Corporation, Rockville, Etats-Unis, 2000).

II. 4. 3. Extraction Conventiionnelle (EC)

Afin de vérifier l'efficacité des ultrasons dans l'extraction des caroténoïdes des écorces d'orange, une extraction conventionnelle par macération a été réalisée dans les conditions optimales obtenues pour l'extraction assistée par ultrasons. Les essais ont été effectués dans le même dispositif que celui utilisé pour l'extraction assistée par ultrasons mais sans l'utilisation de ces derniers.

Aussi bien pour l'extraction assistée par ultrasons que pour l'extraction conventionnelle, la taille des particules a été fixée selon les données de la littérature à 2 cm², alors que le ratio solide/solvant a été fixé sur la base des résultats de l'étude paramétrique.

II. 4. 4. Influence du solvant d'extraction

Dans le but de vérifier l'efficacité du limonène dans l'extraction des caroténoïdes comme solvant vert, des essais ont été réalisés avec de l'hexane dans les conditions optimales obtenues pour le limonène.

II. 4. 5. Quantification des caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes a été déterminée par une méthode colorimétrique en mesurant à 450 nm contre un blanc préparé à partir du solvant utilisé (d-limonène ou n-hexane), l'absorbance du filtrat obtenu après l'extraction. La concentration exprimée en mg éq β -carotène/g MV, a été obtenue par la loi de Baer Lambert en utilisant une courbe d'étalonnage préparée préalablement en utilisant le β -carotène comme standard.

II. 5. EXTRACTION DES PECTINES

L'extraction des pectines a été effectuée en utilisant l'eau interstitielle de la plante ainsi que les résidus engendrés par l'extraction de l'huile essentielle par MHG.

L'extraction a été menée en utilisant deux procédés :

- L'Extraction Assistée par Micro-ondes (EAM),
- L'Extraction Conventiennelle ou macération (EC).

La comparaison entre ces deux procédés a porté sur le rendement en pectine et la durée d'extraction.

II. 5. 1. Extraction Assistée par Micro-ondes (EAM)

L'extraction des pectines a été effectuée selon la méthode de Joye et Luzzio [181] et adaptée à notre étude. Pour ce faire, 5 g de résidu d'écorces d'oranges ont été séchés et broyés puis rajoutés à 150 mL de l'eau résiduelle recyclée. Après avoir ajusté le pH à 2 avec du HNO₃ (0,1 N) utilisé comme agent d'extraction, le mélange a été placé dans un four micro-ondes et chauffé à différentes puissances : 200, 300, 400 et 500 W jusqu'à ébullition. Le mélange a ensuite été refroidi et filtré avant de réajuster le pH à 4,5 avec du NaOH (0,1 N). Le filtrat a ensuite été évaporé et coagulé en utilisant un volume d'éthanol égal à deux fois le volume du filtrat et laissé pendant 24 h. La pectine coagulée a ensuite été récupérée par filtration et séchée à 50 °C pendant 24 h puis pesée.

II. 5. 2. Extraction Conventiennelle (EC)

L'extraction conventionnelle a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que pour l'extraction assistée par micro-ondes. Cependant, dans ce cas, le mélange a été chauffé à 80 °C dans un bain-marie pendant une durée de 2 heures.

Les rendements en pectine ont été calculés comme suit :

$$R_p(\%) = \frac{M_p}{M_s} \times 100 \quad (8)$$

Où :

R_p est le Rendement en pectine (%), M_p la Masse de pectine (g), M_s la Masse de la matière végétale sèche (g).

Avec :

$$M_S = (1 - H) \times M_H \quad (9)$$

H : Le taux d'humidité de la plante (%),

M_H : La masse de plante humide (g).

PARTIE III :
RESULTATS ET DISCUSSIONS

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Cette partie est consacrée à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

III.1. EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE

L'extraction de l'huile essentielle des écorces d'orange a été réalisée par trois procédés :

- L'Entrainement à la Vapeur d'Eau (EV),
- L'Hydro-diffusion Assistée par Micro-ondes et Gravité (MHG),
- L'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes (SFME).

Le but de cette étude est de déterminer le procédé le plus efficace. Pour ce faire, deux points ont été abordés :

- La cinétique d'extraction des trois procédés,
- L'influence du débit de vapeur ainsi que la puissance de chauffe par micro-ondes sur le rendement en huile essentielle d'orange.

III.1.1. Etude des cinétiques d'extraction

La cinétique d'extraction a été suivie dans le but d'évaluer l'influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle, et de déterminer la durée optimale de traitement pour chaque procédé étudié. Les variations du rendement en huile essentielle en fonction du temps illustrées par la Figure 24, montrent que les rendements en huile essentielle obtenus par les trois procédés sont comparables : $4,16 \pm 0,05$ % pour l'EV ; $4,02 \pm 0,23$ % pour la SFME et $4,22 \pm 0,03$ % pour le MHG. Une différence est néanmoins observée dans les durées d'extraction. En effet, l'examen de la Figure 24 permet de remarquer que la récupération de la totalité de l'huile essentielle d'orange par EV nécessite 240 min. En revanche, la récupération de l'huile essentielle par SFME ne requière que 22 min d'extraction. Par conséquent ce

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

procédé est dix fois plus rapide que l'EV et permet un gain de temps de l'ordre de 91 %. Le temps nécessaire pour l'extraction de l'huile essentielle d'orange par MHG est encore plus réduit et n'est que de 15 min, ce qui entraîne un gain de temps de plus de 93 % par rapport à l'EV, et de 32 % par rapport à la SFME.

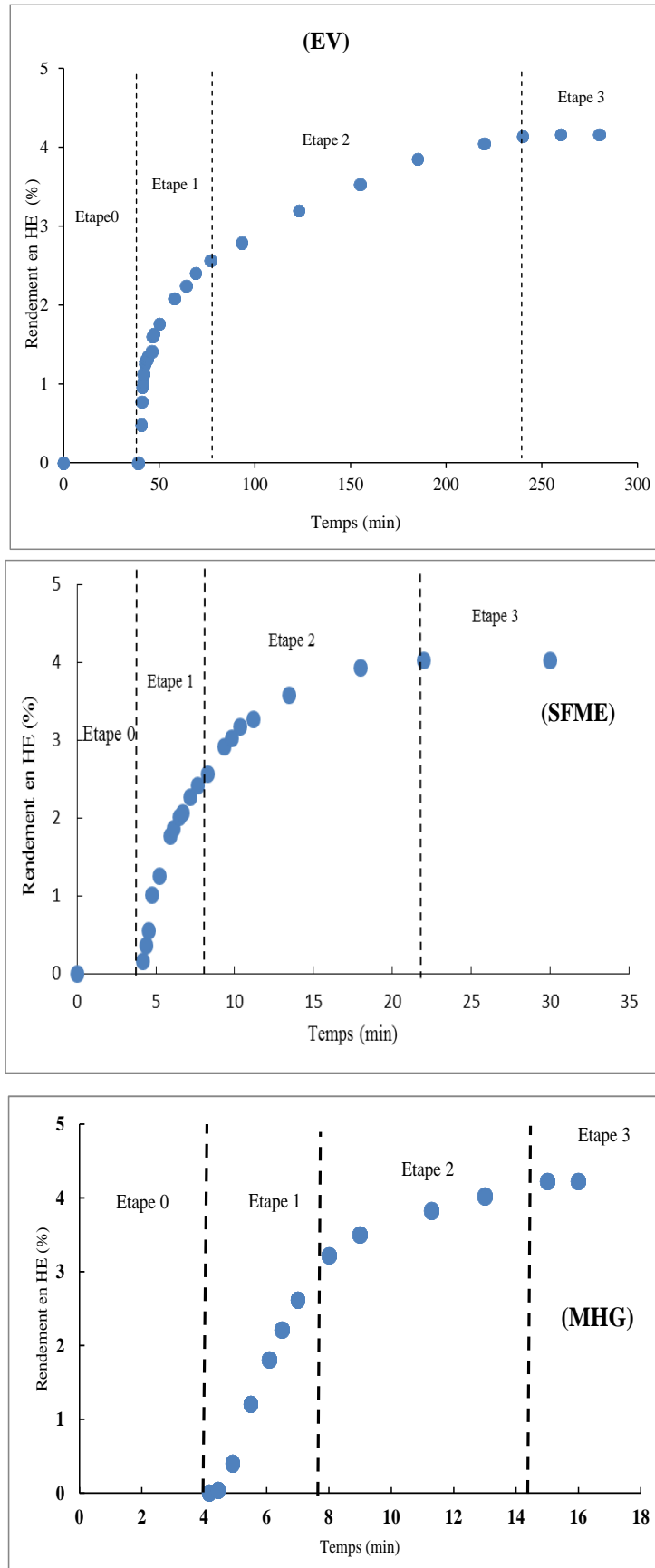


Figure 24 : Evolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps

La réduction du temps d'extraction pour les procédés assistés par micro-ondes est due au transfert de masse et de chaleur qui se produit de l'intérieur de la structure de la plante vers l'extérieur, tandis que ces deux phénomènes de transport se font dans des directions opposées dans le cas des techniques de séparations classiques tel que l'EV.

Le fait que les transferts de matière et de chaleur se font de l'intérieur de la structure de la plante vers l'extérieur, entraîne une augmentation de température en un temps très court en raison de l'effet de chauffage volumétrique qui est fonction de la puissance micro-ondes appliquée. La structure cellulaire est alors exposée à un stress thermique très sévère et à de hautes pressions localisées induites par le chauffage micro-ondes. La pression interne dans les glandes peut alors excéder leur capacité d'expansion extrême, ce qui entraîne leur rupture et la libération de l'huile essentielle. Celle-ci est alors accessible à la vapeur d'eau produite à partir de l'eau intrinsèque de la matière végétale, qui l'entraîne plus facilement, ce qui se traduit par une diminution de la durée d'extraction.

Dans le cas de l'EV, le stress thermique se produit progressivement, les poches contenant l'huile sont vidées de leur contenu et ne font que "s'effondrer" sans se rompre. La vapeur doit donc diffuser à travers ces parois pour atteindre l'huile essentielle et l'entraîner, ce qui augmente la durée d'extraction.

Ces avantages en termes de réduction du temps dus aux micro-ondes ont également été signalés dans d'autres études telles que celles de Périno-Issartier et al. pour l'huile essentielle de lavande (15 min par MHG vs 120 min par EV) [182], Sahraoui et al. pour l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau assistée par micro-ondes (EVMO) qui a montré une diminution du temps d'extraction de l'huile essentielle d'orange de 3 heures pour l'EV à 6 min pour l'EVMO [183] et de 40 min pour l'EV à 6 min avec l'EVMO pour l'huile essentielle de lavande [125] ; Farhat et al., pour l'extraction de l'huile essentielle de zeste d'orange par hydro-diffusion assistée par micro-ondes (12 min vs 40 min pour l'hydro-diffusion conventionnelle) [184]. Filly et al., pour l'extraction de l'huile essentielle d'herbes aromatiques (30 min par SFME vs 120 min par hydrodistillation (HD))[185], Xiao-Lin Qi et al. pour l'extraction de l'huile essentielle de feuilles de pois d'Angole (44 min pour la SFME Vs 300 min pour l'hydrodistillation (HD)) [186].

Par ailleurs, l'examen de la Figure 24 montre que les cinétiques d'extraction des trois procédés présentent le même profil, caractérisé par trois étapes distinctes.

- ✓ L'Etape 0 représentant la phase de chauffage de la température ambiante à 100 °C, est plus rapide pour la SFME et le MHG. Elle se fait en 4 minutes contre 40 minutes pour l'EV.
- ✓ L'Etape 1 durant laquelle sont récupérés en 4 minutes 63,68 % de l'huile essentielle pour la SFME et 76 % pour le MHG, et en 37 minutes 61,53 % pour l'EV.
- ✓ L'Etape 2 caractérisée par une diminution de la vitesse d'extraction dure 14 minutes pour la SFME, 7 minutes pour le MHG, et 163 minutes pour l'EV, correspondant à la récupération de 36,32 % d'huile essentielle, 24 % et 38,46 % pour les trois procédés respectivement.
- ✓ L'Etape 3 correspond à la fin du processus d'extraction et est représentée par une ligne horizontale.

Pour confirmer ces résultats et déterminer l'ordre de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle pour les différents procédés, nous avons supposé que ces cinétiques suivaient une loi du premier ordre où la vitesse d'extraction s'écrit comme suit :

$$-\ln\left[1 - \frac{R_{HE}}{R_{HE\infty}}\right] = k_E t \quad (10)$$

Où :

k_E : la constante de vitesse d'extraction (min^{-1}),

$R_{HE\infty}$: le rendement en huile essentielle au temps infini (%),

R_{HE} : le rendement en huile essentielle au temps t (%).

Les variations de $-\ln\left[1 - \frac{R_{HE}}{R_{HE\infty}}\right]$ en fonction du temps, représentées sur la Figure 25, indiquent la présence de deux droites de pentes différentes pour les 3 procédés étudiés, ce qui confirme que les cinétiques suivent bien une loi du 1^{er} ordre.

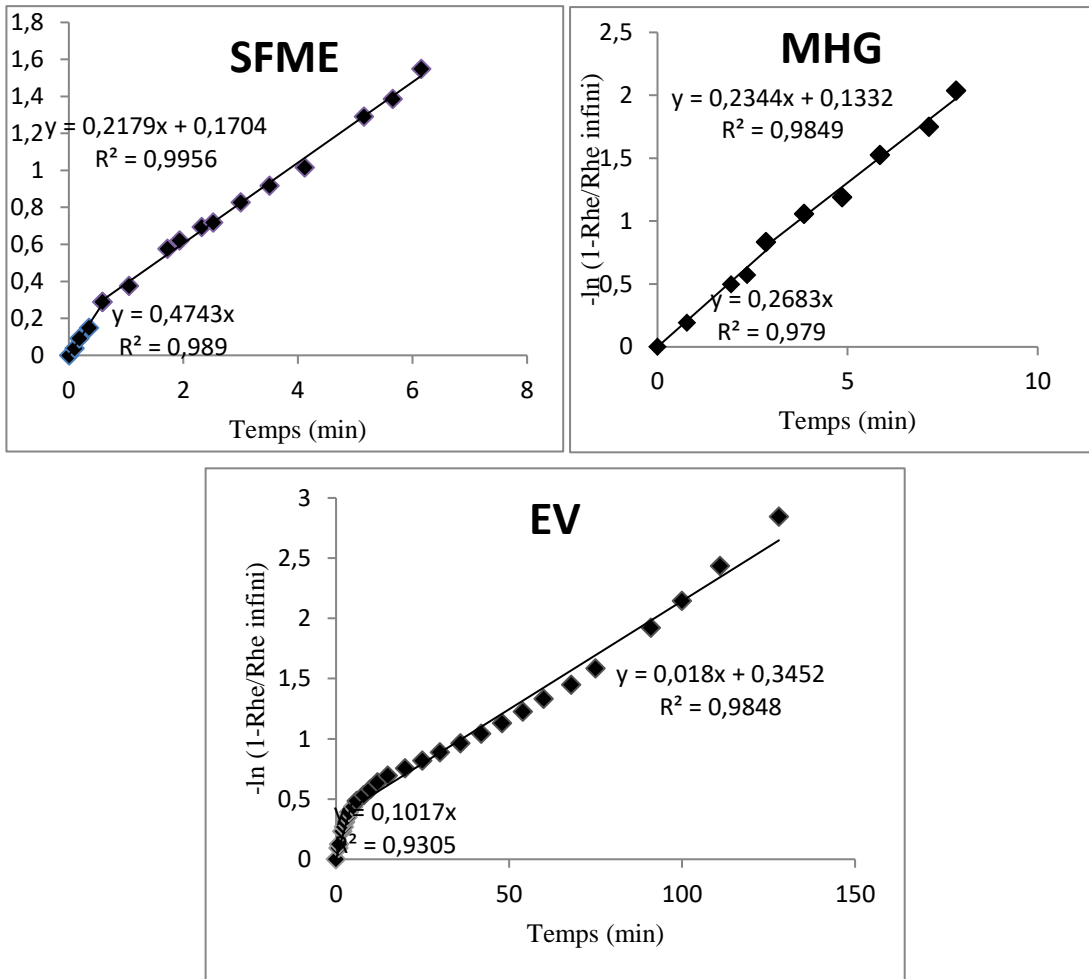


Figure 25 : Evolution de $-\ln\left[1 - \frac{R_{HE}}{R_{HE\infty}}\right]$ en fonction du temps

L'existence de deux droites suggère que la récupération de l'huile essentielle (sans tenir compte de l'étape de chauffage), se fait en deux étapes, ce qui est en accord avec les courbes cinétiques représentées à la Figure 24. Les valeurs des constantes de vitesses sont résumées dans le Tableau V.

Les sites d'huile essentielle étant superficiels, les premières minutes d'extraction sont les plus importantes avec des constantes de vitesses élevées (0,474 min⁻¹ pour la SFME ; 0,268 min⁻¹ pour le MHG, et 0,1017 min⁻¹ pour l'EV), ce qui correspond à la première étape de l'extraction. La seconde droite caractérisée par une constante de vitesse plus faible, correspond à un épuisement de l'huile dans la matrice végétale (Etape 2).

Pour la SFME, la vitesse d'extraction diminue de moitié durant la seconde étape d'extraction, ceci est due au dispositif (Clevenger) utilisé qui permet le recyclage de

l'eau de la plante afin de maintenir un taux d'humidité constant dans le réacteur, l'extraction est alors assimilée à une hydrodistillation assistée par micro-ondes. L'extraction nécessite donc le chauffage de l'eau et son évaporation ce qui requière un temps plus élevé.

En revanche, pour l'extraction de l'huile essentielle par MHG, les valeurs des constantes de vitesse sont comparables pour les deux étapes. Ceci peut être expliqué par le phénomène de gravité qui intervient dans la récupération de l'huile essentielle. Le fait que la seconde étape dure plus longtemps pourrait être dû au chemin emprunté par la vapeur lors de l'extraction de l'huile essentielle de haut en bas, alors que le chemin naturel de la vapeur est de bas en haut, le processus d'extraction nécessite donc un temps légèrement plus élevé.

Tableau V: Constantes de vitesse pour les différents procédés étudiés

Procédé	Entraînement à la vapeur d'eau (EV)		Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME)		Hydro-diffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG)	
	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂
Constante de vitesse (min ⁻¹)	0,101	0,018	0,474	0,217	0,268	0,234

III.1.2. Influence du débit de vapeur d'eau et de la puissance de chauffe par micro-ondes sur le rendement en huile essentielle

L'influence du débit de vapeur sur le rendement en huile essentielle a été évaluée pour l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (EV), alors que l'influence de la puissance de chauffe par micro-ondes a concerné l'extraction par MHG et par SFME.

III.1.2.1. Influence du débit de vapeur d'eau sur l'extraction par «EV»

Afin de déterminer l'influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en huile essentielle, des essais ont été effectués à différents débits de vapeurs d'eau : 8, 12, 14, 16 et 18 g.min⁻¹. Les résultats obtenus sont illustrés par la Figure 26.

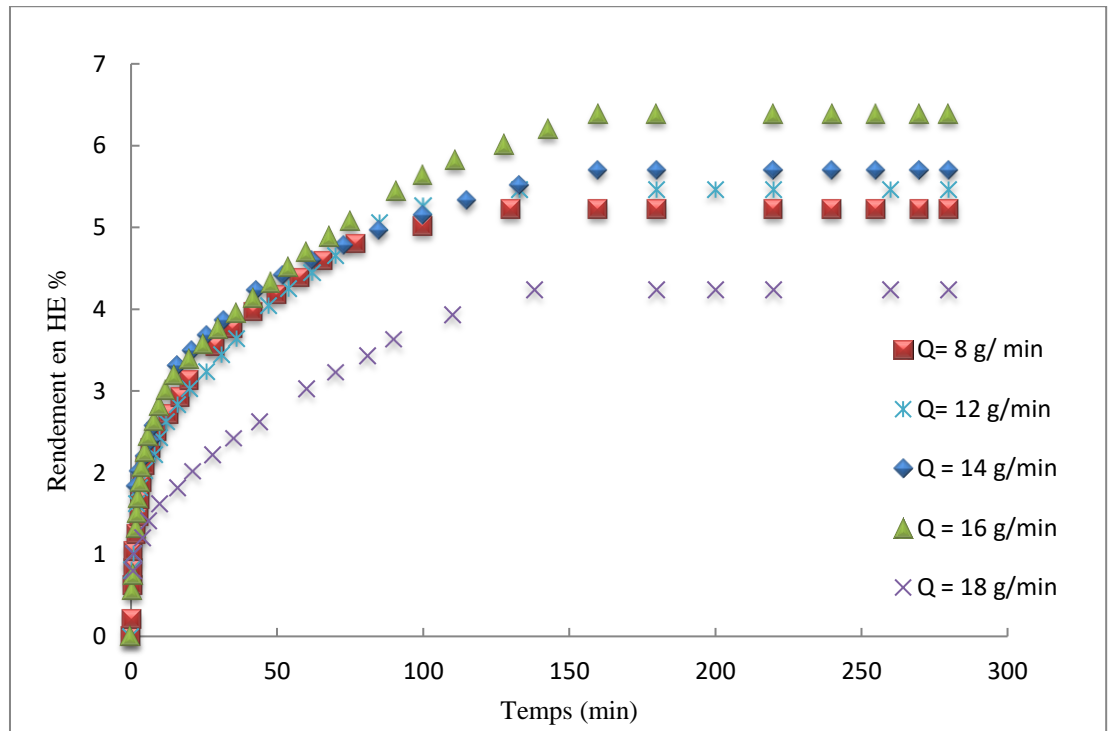


Figure 26 : Influence du débit de vapeur d'eau sur l'extraction par «EV»

En se rapportant à la Figure 26, nous pouvons constater qu'un rendement optimal en huile essentielle de 6,38 % est obtenu pour un débit de 16 g.min⁻¹. Le plus faible rendement en huile essentielle est observé pour un débit de 18 g.min⁻¹. Le débit de vapeur étant assez important, la création de chemins préférentiels pourrait être la cause des faibles quantités d'huile obtenues lors de l'extraction. Une partie de la matière végétale n'étant pas en contact avec la vapeur, l'huile n'est pas entraînée.

Pour les débits inférieurs à 16 g.min⁻¹, la quantité de vapeur n'étant pas suffisante pour entraîner toute l'huile essentielle, le rendement en huile essentielle est faible.

III.1.2.2. Influence de la puissance micro-ondes sur l'extraction par « MHG »

Pour déterminer l'influence de la puissance de chauffe par micro-ondes sur le rendement en huile essentielle, des extractions ont été effectuées à différentes

puissances (200, 300, 400, 500 et 700 W). Les résultats obtenus sont représentés à la Figure 27.

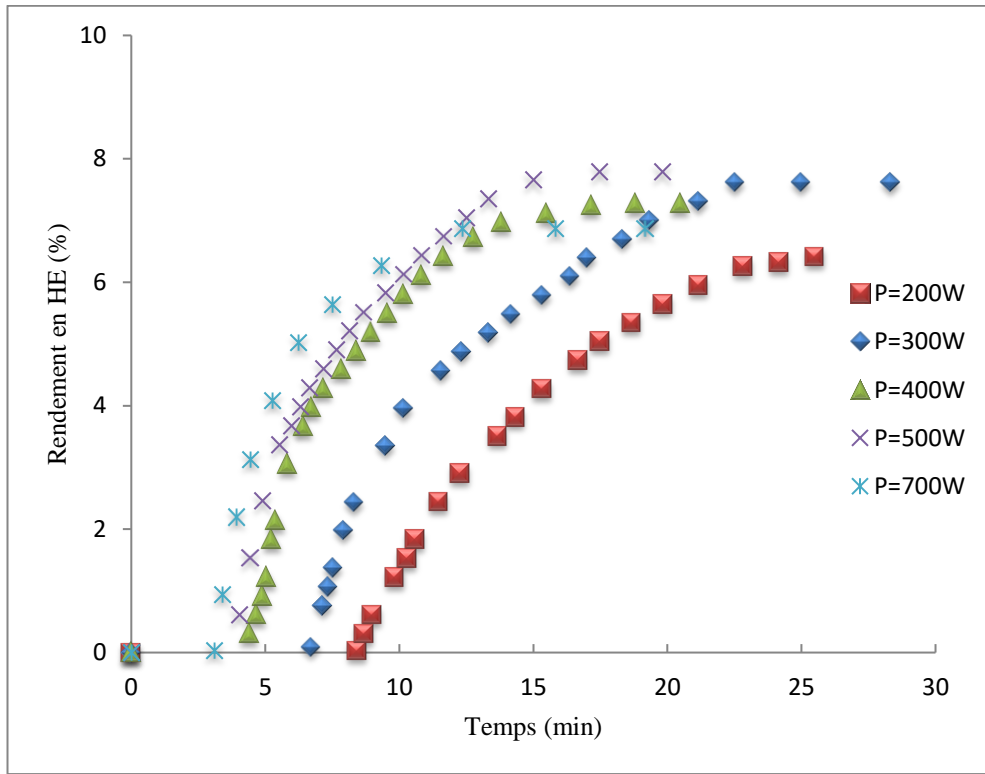


Figure 27 : Influence de la puissance micro-ondes sur l'extraction par «MHG»

L'examen de la Figure 27, montre que les rendements en huile essentielle obtenus pour les puissances de 300, 400 et 500 W sont du même ordre de grandeur à savoir 7,61 % ; 7,27 % et 7,78 % respectivement. Au-delà de 500 W, nous remarquons une diminution du rendement en huile essentielle, due au fait que la matrice végétale subit un chauffage micro-ondes intense ce qui provoque sa combustion avant l'extraction de la totalité de l'huile essentielle. Le faible rendement en huile essentielle obtenu pour une puissance de 200 W serait dû au fait que l'énergie générée par cette puissance n'est pas suffisante pour faire éclater les cellules sécrétrices d'huile essentielle, et donc une partie de cette dernière n'est pas extraite [187]. La puissance de 500 W peut être considérée comme la plus performante car elle permet d'obtenir le meilleur rendement (7,78 %) en un temps plus court (17 minutes), contre 19 minutes pour 400 W, et 22 minutes pour 200 W.

III.1.2.3. Influence de la puissance micro-ondes sur l'extraction par «SFME»

L'étude a été réalisée en suivant la même méthodologie adoptée pour l'extraction par MHG. Les résultats obtenus sont illustrés sur la Figure 28.

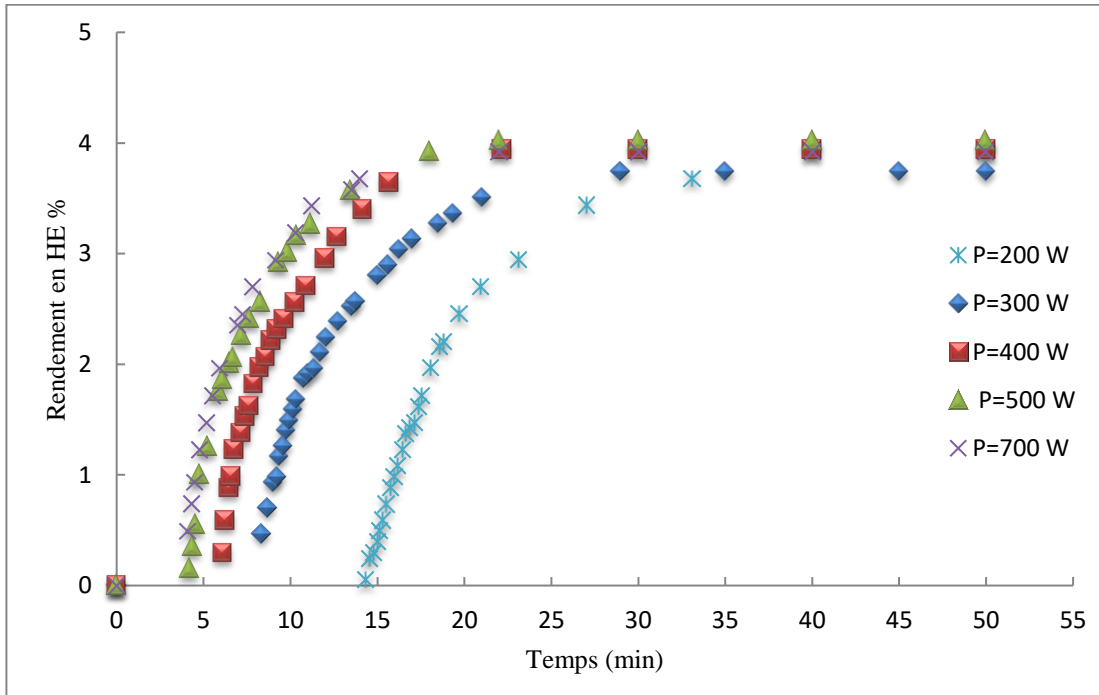


Figure 28 : Influence de la puissance micro-ondes sur l'extraction par «SFME»

L'extraction par SFME donne quasiment les mêmes rendements en huile essentielle pour l'ensemble des puissances utilisées, la différence réside seulement dans le temps nécessaire à l'extraction de la totalité de l'huile essentielle. La Figure 29 illustrant l'évolution de la durée totale d'extraction en fonction de la puissance micro-ondes, montre que le temps d'extraction diminue en fonction de l'augmentation de la puissance micro-ondes et se stabilise autour de 22 min pour une puissance de 500 W.

Ainsi, pour les faibles puissances, le temps nécessaire pour chauffer la matière végétale et provoquer l'éclatement des sites d'huile essentielle est plus important. En revanche, pour les puissances plus élevées, le chauffage de la matière végétale nécessite un temps plus court, par conséquent l'extraction se fait plus rapidement.

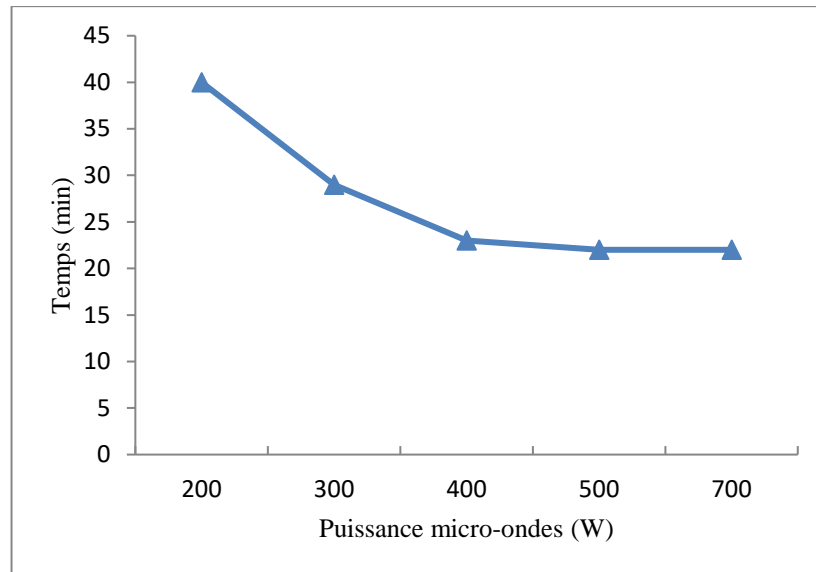


Figure 29 : Evolution de la durée d'extraction par SFME en fonction de la puissance micro-ondes

Les résultats de cette première partie ont montré que le MHG est le procédé le plus efficace pour l'extraction de l'huile essentielle des écorces d'orange. Aussi, pour la suite de l'étude, nous nous sommes intéressés à la valorisation des résidus solides et de l'eau résiduelle de la matière végétale issus de l'extraction de l'huile essentielle par ce procédé. Cette valorisation a porté sur la récupération de bio-composés à haute valeur ajoutée à savoir les polyphénols et les pectines.

III.2. EXTRACTION DES POLYPHENOLS

L'extraction des polyphénols a été réalisée sur les résidus solides de l'extraction de l'huile essentielle par MHG en utilisant comme solvant l'eau résiduelle de la plante obtenue à la fin du processus d'extraction [187].

III.2.1. Résultats du plan d'expériences

Les résultats du plan composite central ont été analysés par le logiciel STATGRAPHICS Plus. Les valeurs réelles et codées des variables opératoires, ainsi que les rendements en polyphénol obtenus pour les différents essais sont présentés dans le Tableau VI.

La comparaison des valeurs du rendement d'extraction, obtenus pour les essais dont un paramètre est constant alors que le second varie, montre que :

- ✓ lorsque la température est à son niveau inférieur (-1) ou supérieur (+1), le rendement, augmente avec l'augmentation de l'intensité ultrasonore pour atteindre son maximum pour une température de 60°C et une intensité ultrasonore de 0,958 W. cm⁻² ;
- ✓ lorsque l'intensité ultrasonore est à son niveau inférieur (-1), le passage de la température de son niveau inférieur à son niveau supérieur, entraîne une augmentation du rendement de 32,22 mg AG/100 g MV à 42,26 mg AG/100 g MV au point de coordonnées (-1, 0), puis diminue à 39,47 mg AG/100 g MV.
- ✓ le rendement augmente continuellement de 42,07 mg AG/100 g MV à 49,94 mg AG/100 g MV lorsque la température passe de son niveau inférieur à son niveau supérieur alors que IU est à son niveau supérieur (+1) ;
- ✓ les résultats obtenus pour les essais relatifs aux répétitions au centre montrent une bonne reproductibilité des résultats.

Tableau VI : Résultats du plan d'expériences pour l'extraction des polyphénols

Essai	Variables réduites		Variables réelles		Réponse
	A	B	T (°C)	IU (W. cm ⁻²)	Y _{PPT} (mg AG/100 g MV)
1	0	0	40,0	0,575	44,17
2	0	0	40,0	0,575	43,83
3	+1	0	60,0	0,575	45,85
4	-1	-1	20,0	0,191	32,22
5	0	0	40,0	0,575	43,83
6	0	-1	40,0	0,191	42,26
7	-1	+1	20,0	0,958	42,07
8	-1	0	20,0	0,575	35,41
9	+1	+1	60,0	0,958	49,94
10	0	0	40,0	0,575	44,36
11	+1	-1	60,0	0,191	39,47
12	0	+1	40,0	0,958	48,80

III.2.1.1. Analyse de la variance

L'analyse de variance à deux facteurs permet de vérifier, moyennant certaines hypothèses, si un facteur a un effet significatif sur la variable étudiée. Elle permet aussi d'analyser l'impact combiné des deux variables sur la réponse étudiée.

La détermination des facteurs significatifs se fait à l'aide d'une hypothèse nulle appelée H_0 qui suppose que l'effet du paramètre est égal à zéro. La probabilité d'acceptabilité de cette hypothèse est appelée Val-P.

- Si Val-P < 5 %, l'hypothèse H0 est rejetée et le paramètre est significatif.
- Si Val-P > 5 %, l'hypothèse H0 est retenue et le paramètre est non significatif.

Les résultats de l'analyse de la variance sont donnés dans le Tableau VII.

Tableau VII : Analyse de la variance

Source	Val-P
<u>A:Temperature</u>	<u>0,0001</u>
<u>B:IU</u>	<u>0,0001</u>
<u>AA</u>	<u>0,0014</u>
AB	0,7985
BB	0,2628

Les effets des paramètres, schématisés graphiquement à l'aide du diagramme de Pareto (Fig. 30), montrent que les effets simples de l'intensité ultrasonore et de la température sont les plus significatifs suivis de l'effet quadratique de la température. Les effets positifs et négatifs des facteurs sont représentés par des barres horizontales. La ligne verticale teste l'importance des effets avec un niveau de confiance de 95 %.

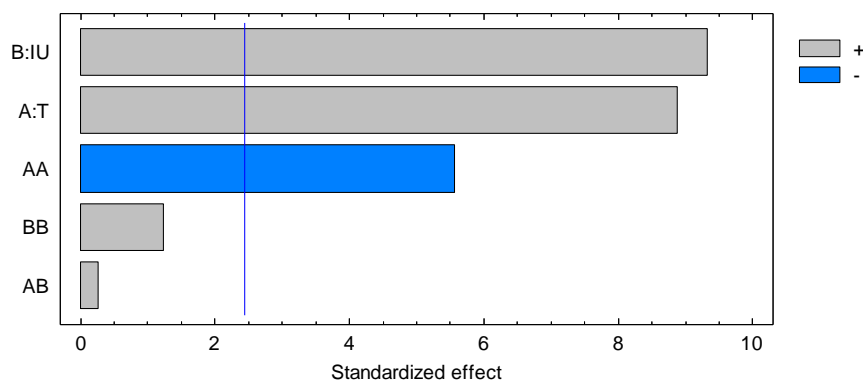


Figure 30 : Diagramme de Pareto pour l'extraction des polyphénols
(A : Température (T) ; B : Intensité ultra sonore (IU))

III.2.1.2. Effets simples des paramètres

Les effets des paramètres représentent le passage d'un paramètre de son niveau inférieur à son niveau supérieur, les autres étant à leur niveau zéro.

La Figure 31 illustre les effets simples de la température et de la puissance ultrasonore sur le rendement en polyphénols. Nous pouvons remarquer que le rendement en polyphénols augmente pour des températures variant entre 20 °C et 50 °C puis diminue au-delà de cet intervalle. En revanche l'effet simple de l'intensité ultrasonore est plus important, en effet, lorsque la variable passe de son niveau bas à son niveau haut, le rendement en polyphénols passe de 32,22 à 49,94 mg AG/ 100 g MV.

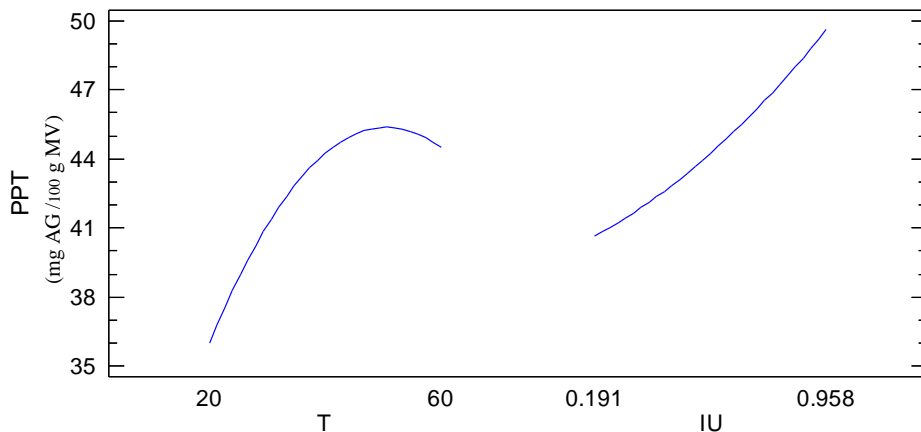


Figure 31: Effets simples de la température et de l'intensité ultrasonore

III.2.1.3. Effets d'interaction des paramètres

Ces effets sont significatifs lorsque les signes des pentes des courbes représentant leurs variations sont différents. Il y a donc interaction entre les paramètres considérés.

La Figure 32, illustrant l'effet d'interaction des facteurs expérimentaux montre qu'il n'existe aucune interaction entre la température et l'intensité ultrasonore. Par conséquent, ces deux paramètres n'interagissent pas entre eux.

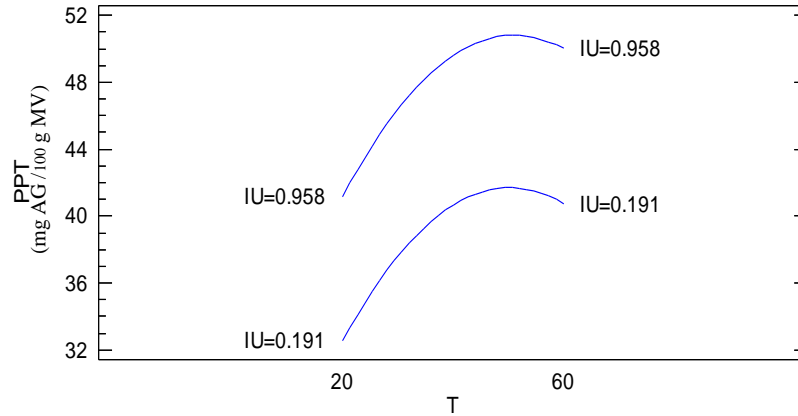


Figure 32 : Effets d'interactions Température-Intensité ultrasonore

III.2.1.4. Détermination du modèle mathématique

Le traitement des résultats obtenus par le logiciel STATGRAPHICS Plus nous a permis d'aboutir au modèle mathématique suivant :

$$Y_{PPT} = 15,4330 + 1,0036 T + 3,9214 IU - 0,01003 T^2 + 0,0202 T IU + 6,0429 IU^2 \quad (11)$$

Où **T** est la variable relative à la température exprimé en (°C) et **IU** la variable relative à l'intensité ultrasonore (W. cm⁻²).

En éliminant les effets non significatifs, l'équation précédente peut être réduite à :

$$Y_{PPT} = 15.4330 + 1.0036 T + 3.9214 IU - 0.01003 T^2 \quad (12)$$

III.2.1.5. Coefficient de détermination R²

Le coefficient de détermination (**R²**) est un indicateur qui permet de juger la qualité d'une régression linéaire, simple ou multiple. D'une valeur comprise entre 0 et 1, il mesure l'adéquation entre le modèle et les données observées. Dans notre étude, la valeur de ce coefficient est de **98,37 %**. Il existe un autre coefficient de détermination appelé coefficient de détermination ajusté. Ce dernier tient compte du nombre de variables utilisées. En effet, le principal défaut du **R²** est de croître avec le nombre de variables explicatives. Or, on sait qu'un excès de variables produit des modèles peu robustes. C'est pourquoi on s'intéresse davantage à cet indicateur qu'au **R²**. Dans

notre cas il est égal à **93,90 %**. Ceci signifie que le modèle décrit bien le système étudié dans le domaine expérimental considéré.

L'ajustement du modèle peut être vérifié en comparant les valeurs expérimentales obtenues avec les valeurs prédites par le modèle mathématique proposé (Tableau VIII). Plus les valeurs sont proches, plus l'ajustement du modèle est satisfaisant et donc le modèle décrit bien le comportement du système étudié.

Tableau VIII : Valeurs expérimentales et calculées du rendement en polyphénols totaux

Essai	Y _{PPT} (mg AG/100 g MV)	
	Valeurs	Valeurs
	Expérimentales	Calculées
1	44,17	44,24
2	43,83	44,24
3	45,85	44,49
4	32,22	32,54
5	43,83	44,24
6	42,26	40,65
7	42,07	41,18
8	35,41	35,97
9	49,94	50,01
10	44,36	44,24
11	39,47	40,75
12	48,80	49,61

La comparaison des valeurs expérimentales avec celles prédites par le modèle montre qu'elles sont proches. Ce qui confirme la fiabilité du modèle.

Les conditions opératoires optimales déterminées expérimentalement et celles calculées par le logiciel sont regroupées dans le Tableau IX.

Tableau IX : Conditions opératoires optimales expérimentales et calculées à partir du modèle mathématique

Valeur	Conditions Opératoire Optimales		
	Température (°C)	Intensité Ultrasonore (W. cm ⁻²)	Y _{PPT} (mg AG/ 100g MV)
Calculée	59,83	0,956	50,02
Expérimentale	60,00	0,956	49,94

Les conditions opératoires optimales calculées par le logiciel concordent avec les résultats obtenus lors de l'expérimentation, ce qui confirme que le modèle proposé décrit bien le système étudié dans le domaine expérimental choisi.

III.2.1.6. Les surfaces de réponse

Les surfaces de réponse sont des représentations graphiques à trois dimensions de la réponse du système étudié en fonction d'un paramètre, le deuxième étant fixé à son niveau zéro (central). Ce type de représentation permet de rechercher des régions expérimentales pour lesquelles la réponse est optimale.

En analysant la surface de réponse illustrant les variations du rendement en polyphénols en fonction du couple Température - Intensité Ultrasonore (Fig. 33), nous pouvons constater que les valeurs optimales qui engendrent le meilleur rendement d'extraction en PPT se trouvent aux niveaux supérieurs de l'espace des variables du domaine expérimental, c'est-à-dire lorsque T et IU sont à leur niveau (+1).

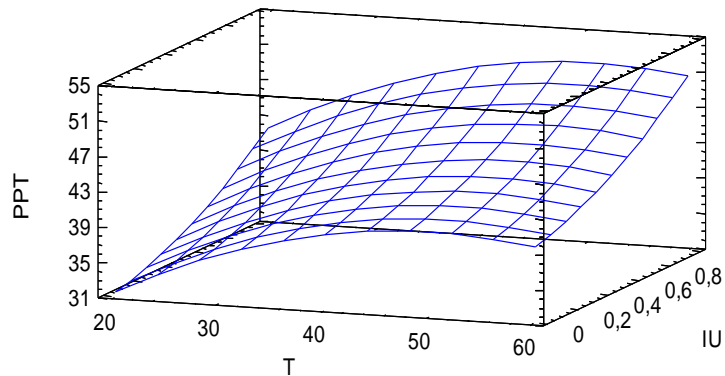


Figure 33: Surface de réponse du couple Température - Intensité Ultrasonore

III.2.2. Comparaison entre l'extraction assistée par ultrasons (EUS) et l'extraction conventionnelle (EC)

Afin d'évaluer l'impact des ultrasons sur le rendement en polyphénols, une étude comparative a été effectuée entre l'extraction assistée par ultrasons (EUS) et l'extraction conventionnelle (EC) dans les conditions optimales obtenues à partir de l'optimisation par la méthodologie des surfaces de réponse de l'EUS ($T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $IU = 0,958\text{ W. cm}^{-2}$) mais sans utilisation d'ultrasons.

La comparaison des cinétiques d'extraction des deux procédés présentées sur la Figure 34, montre une nette amélioration en matière de rendement et de temps pour l'EUS. En effet, nous pouvons constater que cette dernière entraîne une augmentation de 30 % du rendement en polyphénols : 58,55 mg AG/100 g de MV pour l'EUS contre 41,23 mg AG/100 g MV pour l'EC. Cette intensification est due au phénomène de cavitation et à l'effet thermique résultant de la rupture des parois cellulaires ayant pour conséquence une réduction de la taille des particules et une amélioration du transfert de matière à travers la membrane cellulaire [177, 188-190]

Les mêmes observations ont été rapportées par Pingret et al. pour l'extraction des polyphénols de marc de pomme [178]. Herrera et Pinelo ont également signalé une

augmentation du rendement de l'extraction en un temps plus court et moins de dégradation des polyphénols que pour les méthodes utilisant l'eau supercritique, l'extraction solide-liquide et l'extraction assistée micro-ondes[191, 192] .

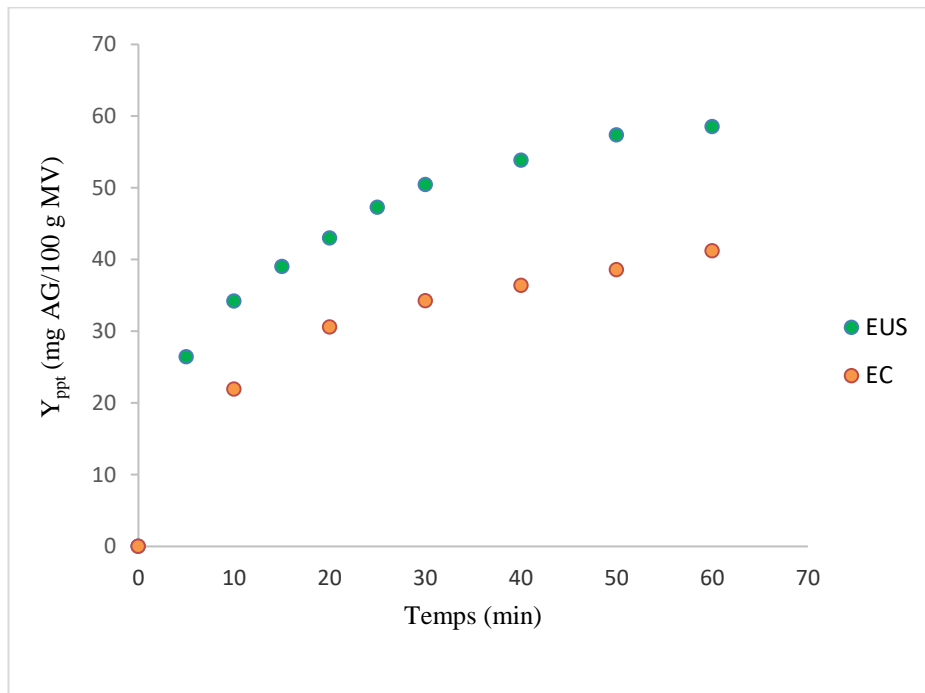


Figure 34 : Comparaison des cinétiques d'extraction assistée par ultrasons et conventionnelle des polyphénols

Ces résultats sont corroborés par l'analyse HPLC (Fig. 35) qui a montré qu'aussi bien pour l'EUS que pour l'EC, les principaux glycosides flavonones retrouvés dans les écorces d'orange sont la narirutine et l'hespéridine, mais avec une différence remarquable de concentration : 0,55 mg narirutine /g MV et 1,45 mg d'hespéridine /g MV pour l'EUS contre 0,11 mg narirutine /g MV et 1,18 mg d'hespéridine /g MV pour l'EC.

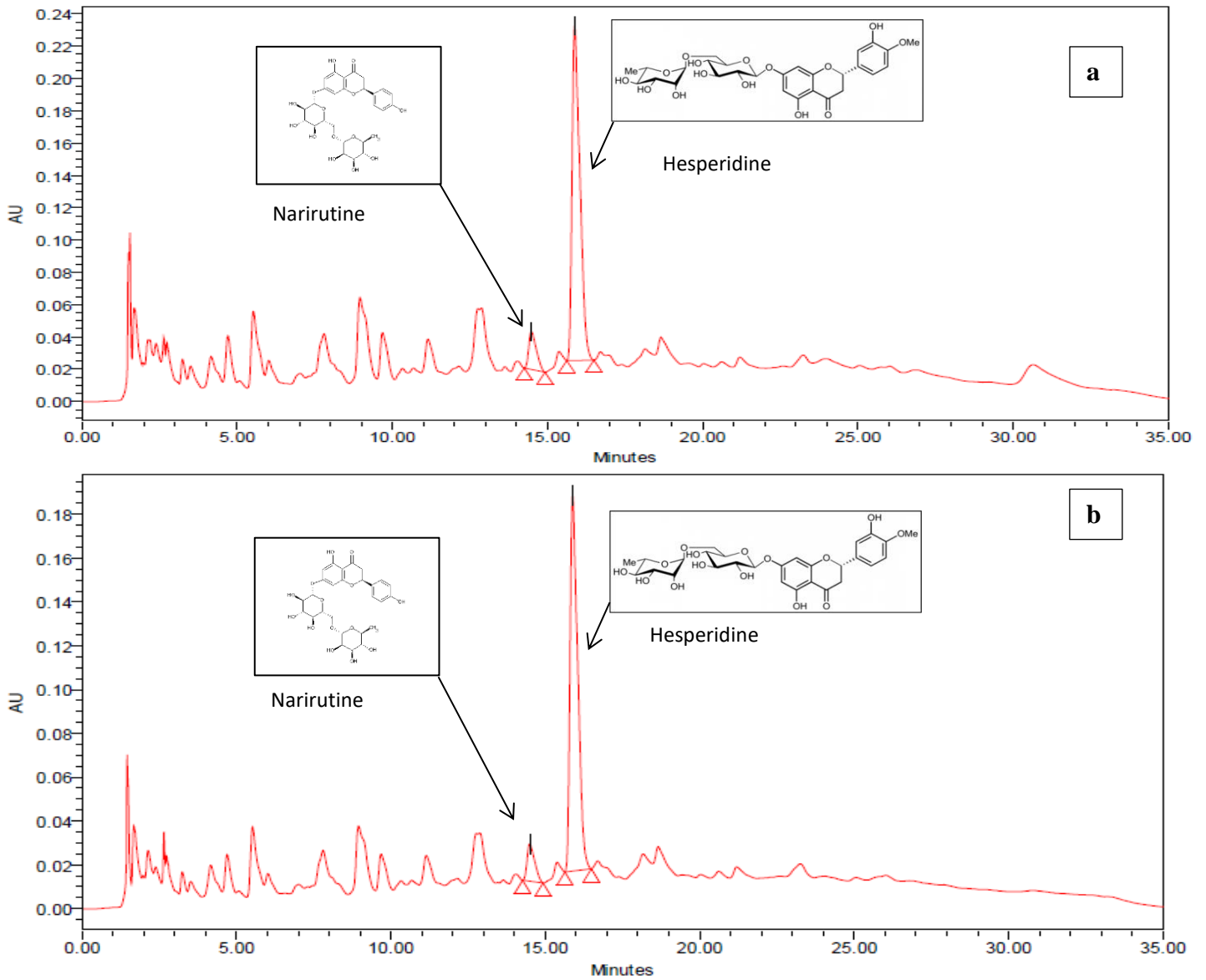


Figure 35 : Chromatogramme HPLC des extraits phénoliques obtenus par EUC^a et EC^b

III.3. EXTRACTION DES PECTINES

L'extraction des pectines a été effectuée sur les résidus d'extraction de l'huile essentielle par MHG en utilisant comme solvant l'eau de constitution de la plante récupérée à la fin du processus. Deux procédés ont été utilisés : l'extraction assistée par micro-ondes (EAM), et l'extraction par macération conventionnelle (EC) [187]. Les résultats expérimentaux obtenus sont donnés dans le Tableau X.

Tableau X : Rendements et durées d'extraction des pectines pour l'extraction assistée par micro-ondes (EAM), et l'extraction conventionnelle (EC)

	EC	EAM			
		Puissance Micro-ondes (W)			
		200	300	400	500
Y Pectine (%)	23,48	17,94	29,5	30,69	31,02
Temps (min)	120	6	5	4	3

Nous pouvons remarquer qu'au-delà de 200 W, l'effet de la puissance micro-ondes n'est pas significatif sur le rendement en pectines. Cependant, une différence est observée en ce qui concerne le temps d'extraction. Un rendement maximal de 31,02 % a été obtenu pour une puissance micro-ondes de 500 W en 3 minutes d'extraction seulement en comparaison avec l'extraction conventionnelle pour laquelle le rendement obtenu est plus faible (23,48 %) et la durée d'extraction nécessite plus de 2 heures. Ce phénomène est lié à l'effet des micro-ondes sur le matériel végétal. En effet, les micro-ondes distendent les cellules de la matrice végétale et entraîne la rupture des parois cellulaires et des tissus conduisant à accroître l'interaction entre l'agent d'extraction et le matériel végétal.

Les mêmes résultats ont été rapportés par plusieurs auteurs. En effet, dans une étude comparative entre l'extraction conventionnelle, l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction assistée par ultrasons des pectines à partir d'écorces de pamplemousse, Bagherian et al. ont montré que le rendement en pectine, la teneur en acide

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

galacturonique, et le degré d'estérification ont augmenté avec l'augmentation de la puissance micro-ondes [193].

Prakash Maran et al., ont également montré que l'extraction assistée par micro-ondes à partir d'écorces d'orange a amélioré le rendement en pectine. En effet, un rendement maximum de 19,24 % a été obtenu pour une puissance micro-ondes de 422 W et à un pH de 1,4 [194].

III.4. EXTRACTION DES CAROTENOÏDES

L'extraction des caroténoïdes à partir des écorces d'oranges a été effectuée par deux procédés : l'extraction assistée par ultrasons (EUS) et l'extraction par macération conventionnelle (EC), en utilisant un bio-solvant issu de l'huile essentielle d'orange : le limonène. L'objectif recherché étant la substitution du n-hexane (solvant pétrochimique) par un solvant d'origine naturelle résultant de l'application du concept de bio-raffinerie aux sous-produits de l'orange.

III.4.1. Etude paramétrique

L'étude paramétrique a porté sur l'influence de deux paramètres importants dans l'extraction des caroténoïdes : le ratio solide/solvant et la puissance ultrasonore.

III.4.1.1. Effet de l'intensité ultrasons sur la teneur en caroténoïdes

Afin d'évaluer l'effet de l'intensité ultrasonore sur l'extraction des caroténoïdes, différentes valeurs variant de 52 à 208 W. cm² ont été testées. Les essais ont été réalisés à température ambiante avec un rapport Solide/Solvant de 1/10. Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 36.

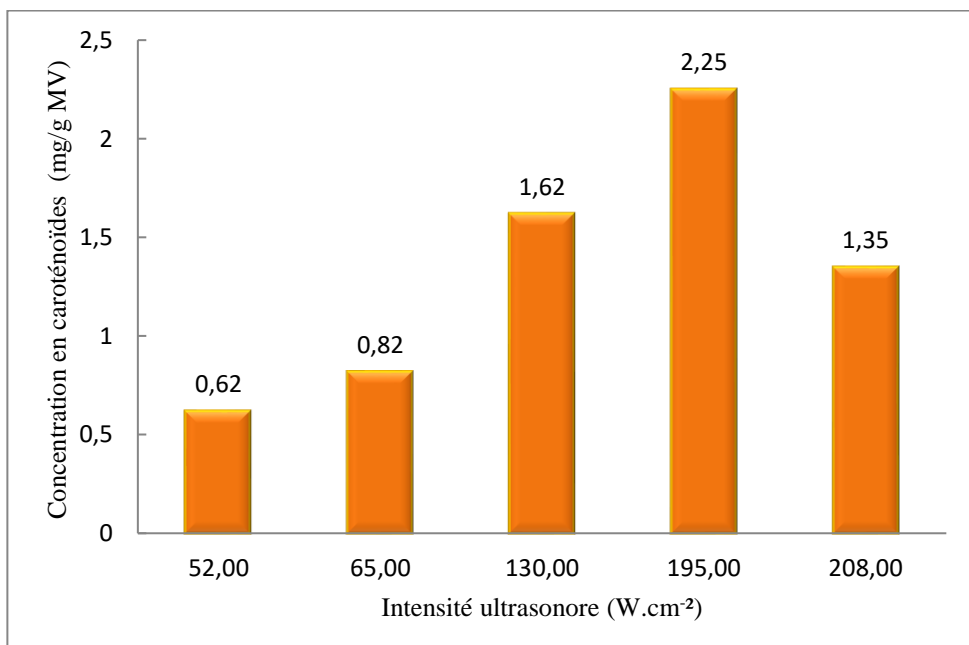


Figure 36 : Influence de l'intensité ultrasonore sur la concentration en caroténoïdes

La Figure 36 met en évidence une augmentation du rendement en caroténoïdes en fonction de l'augmentation de l'intensité ultrasonore dans le domaine allant de 52 W. cm⁻² à 195 W. cm⁻². Cette augmentation rapide est provoquée par un phénomène de cavitation induit par les ultrasons. Ce phénomène crée, élargie et fait imploser par compression et décompression des molécules qui constituent le milieu, des microbulles de gaz dissous dans le liquide. L'effondrement de la bulle de cavitation induit un point chaud transitoire avec une élévation de température et de pression localisées, estimées à 5000 K et 5000 atm, ce qui peut accélérer considérablement la réactivité chimique dans le milieu [195]. L'énergie transférée par le phénomène de cavitation augmente avec l'augmentation de l'intensité acoustique électrique, ce qui facilite la rupture de la paroi cellulaire de la matrice et permet d'accélérer le processus d'extraction. Les mêmes observations ont été rapportées par plusieurs auteurs pour l'extraction assistée par ultrasons du β -carotène [196-199]

Lorsque l'intensité ultrasonore est supérieure à 195 W. cm⁻², une importante diminution de la teneur en caroténoïdes est observée. Ceci pourrait s'expliquer par la formation d'un plus grand nombre de bulles de cavitation qui empêchent la propagation des ondes de choc. Les bulles fusionnent pour former de plus grandes bulles qui implosent faiblement entraînant une réduction de l'effet de cavitation [196, 198].

III.4.1.2. Effet du ratio Solide / Solvant

Les essais ont été réalisés pour deux valeurs du rapport Solide / Solvant (10 % et 20 %), à température ambiante et une intensité ultrasonore de 195 W. cm⁻².

Les résultats obtenus présentés dans la Figure 37 montrent que ce paramètre ne présente pas d'impact particulier sur le rendement en caroténoïdes dans l'intervalle des valeurs choisies ; probablement en raison de la saturation du solvant. Les mêmes observations ont été rapportées par Li et al. pour l'extraction de β -carotène des carottes avec de l'huile de tournesol comme solvant vert qui voit la concentration du β -carotène tripler lorsque le rapport augmente de 1:10 à 2:10 et se stabiliser lorsque le ratio est passé à 3:10 [200]. Inversement, Yujing et al. ont trouvé que la

concentration du β -carotène augmente quand le ratio passe de 1:30 à 3:30 et décroît lorsqu'il passe de 3:30 à 5:30 pour l'extraction assistée par ultrasons [198].

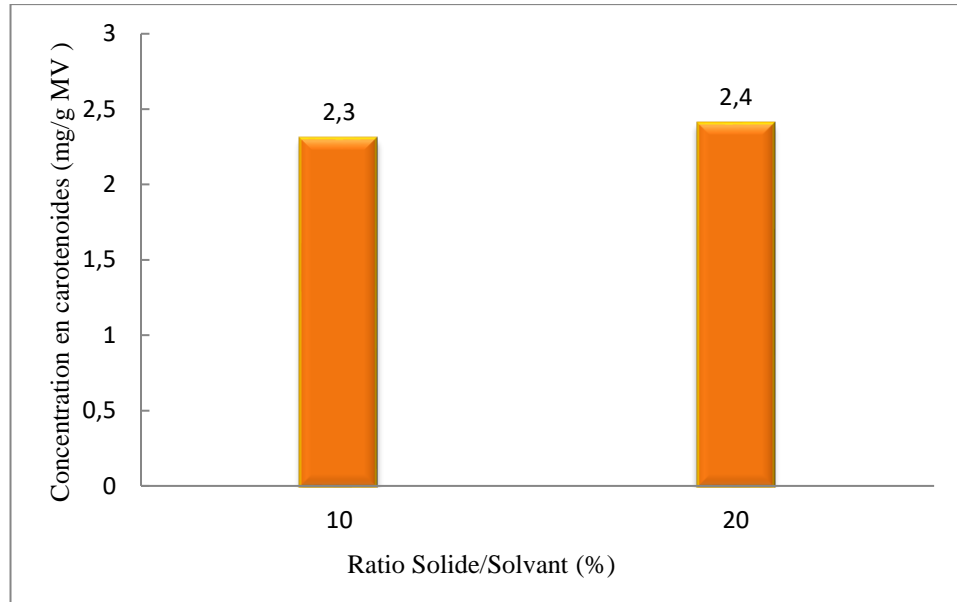


Figure 37 : Influence du ratio Solide/Solvant sur la concentration en caroténoïdes

III.4.2. Etude par plan d'expériences

Les valeurs réelles et codées des facteurs ainsi que les rendements en caroténoïdes obtenus pour les essais du plan d'expériences sont présentés dans le Tableau XI. Nous pouvons constater que le rendement optimal est obtenu pour une intensité ultrasonore de 208 W. cm⁻², une température de 20 °C et un temps de 5 min.

En comparant les valeurs du rendement d'extraction obtenues pour les essais dont un paramètre est constant alors que les deux autres varient, nous pouvons constater que :

- ✓ lorsque la température est à son niveau inférieur (-1) ou supérieur (+1), le rendement, augmente avec l'augmentation de l'intensité ultrasonore pour atteindre son maximum pour une intensité ultrasonore de 208 W. cm⁻², et un temps d'extraction de 5 min.

✓ les résultats obtenus pour les essais relatifs aux répétitions au centre montrent une bonne reproductibilité des résultats,

Tableau XI : Résultats du plan d'expériences pour l'extraction des caroténoïdes

Essai	Variables réelles			Variables réduites			Réponse
	T (°C)	IU (W. cm ⁻²)	t (min)	A	B	C	C _{caroténoïdes} (mg/ g MV)
1	35,0	130,0	20,0	0	0	0	0,91
2	20,0	52,0	5,0	-1	-1	-1	0,27
3	50,0	208,0	35,0	+1	+1	+1	0,92
4	50,0	52,0	5,0	+1	-1	-1	0,31
5	20,0	52,0	35,0	-1	-1	+1	0,30
6	50,0	52,0	35,0	+1	-1	+1	0,44
7	35,0	130,0	20,0	0	0	0	0,92
8	20,0	208,0	35,0	-1	+1	+1	0,65
9	35,0	52,0	20,0	0	-1	0	0,51
10	50,0	130,0	20,0	+1	0	0	0,63
<u>11</u>	<u>20,0</u>	<u>208,0</u>	<u>5,0</u>	<u>-1</u>	<u>+1</u>	<u>-1</u>	<u>1,12</u>
12	35,0	130,0	35,0	0	0	+1	0,83
13	35,0	208,0	20,0	0	+1	0	1,07
14	50,0	208,0	5,0	+1	+1	-1	0,61
15	20,0	130,0	20,0	-1	0	0	0,72
16	35,0	130,0	20,0	0	0	0	0,83
17	35,0	130,0	5,0	0	0	-1	0,61
18	35,0	130,0	20,0	0	0	0	0,74

III.4.2.1. Analyse de la variance

Les résultats de l'analyse de la variance illustrés graphiquement à l'aide du diagramme de Pareto (Figure 38), montrent que les effets significatifs sont : l'effet simple de l'intensité ultrasonore suivi par l'effet d'interaction de la température et du

temps, de l'effet d'interaction des 3 paramètres et enfin de l'effet quadratique de la température.

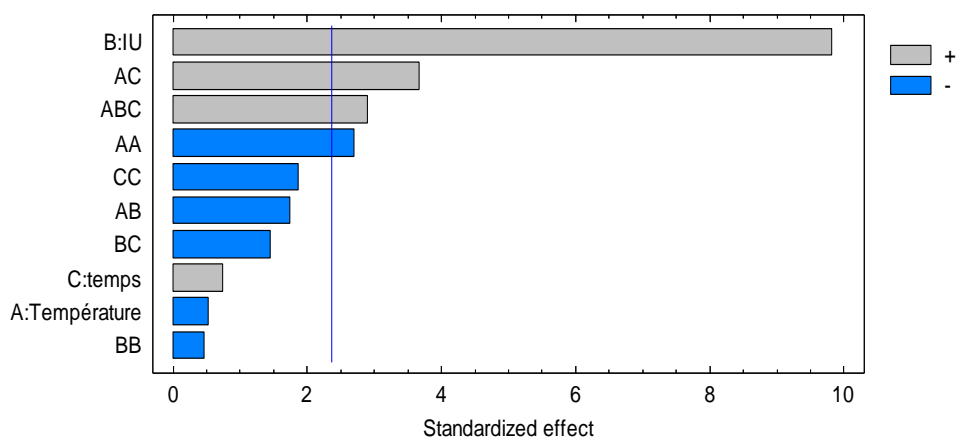


Figure 38 : Diagramme de Pareto pour l'extraction des caroténoïdes

III.4.2.2. Effets simples

La Figure 39 illustrant les effets simples des trois paramètres étudiés, montre que le rendement en caroténoïdes augmente jusqu'à un maximum puis diminue dans l'intervalle de température étudié (20 à 50°C).

L'effet simple de l'intensité ultrasonore influe positivement sur le rendement en caroténoïdes. En effet, lorsque la variable passe de son niveau bas à son niveau haut, le rendement en caroténoïdes augment continuellement.

L'effet simple du temps est similaire à celui de la température ; le rendement en caroténoïdes passe par un maximum puis diminue lorsque la variable passe de son niveau inférieur à son niveau supérieur.

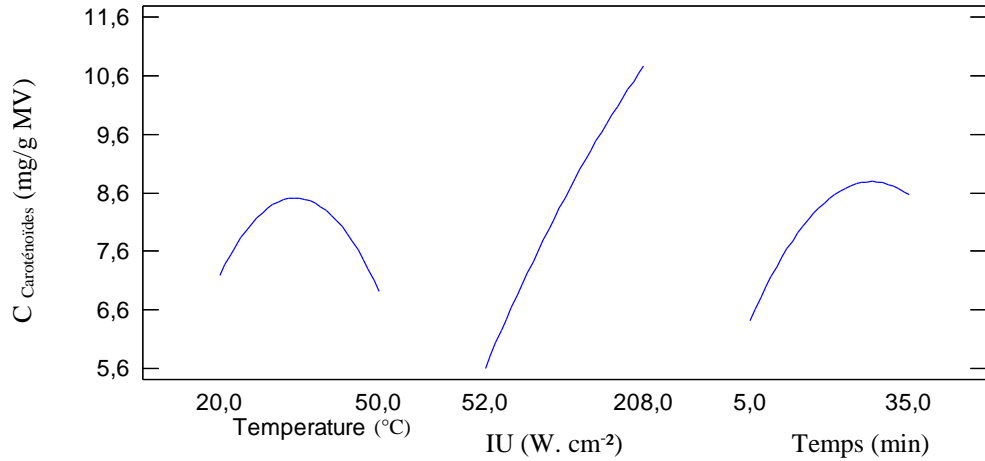


Figure 39 : Effets simples de la température, de l'intensité ultrasonore, et du temps

III.4.2.3. Effets d'interactions

La Figure 40, illustrant les effets d'interactions des facteurs expérimentaux montre qu'il existe seulement une interaction entre l'intensité ultrasonore et le temps. En effet, les pentes des courbes représentant les variations du rendement en fonction de ces deux paramètres sont différentes. Par conséquent, ces deux paramètres ne sont pas indépendants.

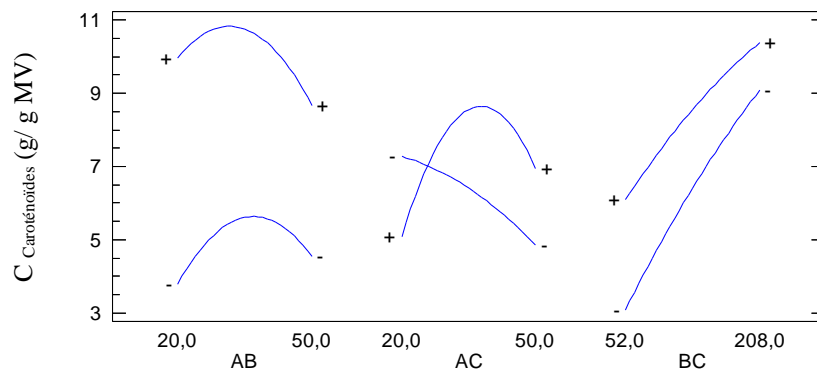


Figure 40 : Effets d'interactions

III.4.2.4. Détermination du modèle mathématique

Le traitement des résultats par le logiciel STATGRAPHICS Plus nous a permis d'aboutir au modèle mathématique suivant :

$$C_{\text{caroténoïdes}} = -0,9705 + 0,0502 T + 0,0099 IU + 0,0280 t - 0,0006 T^2 - 0,0001 T IU - 0,0001 T t - 0,000003 IU^2 - 0,0002 IU t - 0,0004 t^2 + 0,000004 T IU t \quad (13)$$

Où **T** est la variable relative à la température exprimée en (°C), **IU** la variable relative à l'intensité ultrasonore (W. cm⁻²), et **t** la variable relative au temps (min).

En éliminant les effets non significatifs, l'équation précédente peut être réduite à :

$$C_{\text{caroténoïdes}} = -0,9705 + 0,0099 IU - 0,0006 T^2 - 0,0001 T t + 0,000004 T IU t \quad (14)$$

III.4.2.5. Coefficient de détermination R²

La valeur du coefficient détermination R² est de **95,69 %**, alors que le coefficient de détermination ajusté, tenant compte du nombre de variables utilisées est égal à **89,53 %**. Ces valeurs étant proches de 100 %, nous pouvons conclure que les modèles proposés décrivent bien le système étudié dans le domaine expérimental considéré.

Les valeurs du rendement en caroténoïdes obtenus expérimentalement ainsi que les valeurs prédites par le modèle mathématique établi par le logiciel sont rassemblées dans le Tableau XII.

Tableau XII : Valeurs expérimentales et calculées du rendement en caroténoïdes

Essai	C _{caroténoïdes} (mg/ g MV)	
	Valeurs Expérimentales	Valeurs Calculées
1	0,91	0,85
2	0,27	0,25
3	0,92	0,91
4	0,31	0,28
5	0,30	0,29
6	0,44	0,41
7	0,92	0,85
8	0,65	0,65
9	0,51	0,56
10	0,63	0,69
11	1,12	1,13
12	0,83	0,85
13	1,07	1,07
14	0,61	0,64
15	0,72	0,72
16	0,83	0,85
17	0,61	0,62
18	0,74	0,85

Les valeurs expérimentales et prédites par le modèle sont comparables ce qui confirme l'ajustement du modèle mathématique proposé.

Les conditions opératoires optimales calculées par le logiciel concordent avec celles obtenues expérimentalement (Tableau XIII).

Tableau XIII : Conditions opératoires optimales expérimentales et calculées
à partir du modèle mathématique

Valeurs	Conditions Opératoire Optimales			
	Température (°C)	Intensité Ultrasonore (W. cm ⁻²)	Temps (min)	C _{caroténoïdes} (mg/ g MV)
Calculées	20,82	208,0	5	1,11
Expérimentales	20,00	208,0	5	1,12

III.4.2.6. Les surfaces de réponse

Les surfaces de réponse illustrant les variations du rendement en caroténoïdes en fonction des couples Température - Intensité Ultrasonore, Intensité Ultrasonore - Temps et Température - Temps sont représentées sur la Figure 41.

A partir de ces graphiques, à température fixée, nous pouvons constater que le meilleur rendement d'extraction en caroténoïdes est obtenu lorsque l'intensité ultrasonore passe de son niveau inférieur à son niveau supérieur. Le temps ne semble avoir aucune influence dans ce cas.

A intensité ultrasonore fixée, nous remarquons un rendement optimal en caroténoïdes pour une température comprise entre 35 °C et 45 °C pour un temps situé aux alentours de 20 minutes ce qui équivaut aux points centraux du plan d'expériences. Une augmentation de température par la suite entraîne une diminution du rendement en caroténoïdes probablement due à une détérioration de ces derniers par la chaleur.

Lorsque le temps est à son niveau zéro, le meilleur rendement en caroténoïdes est obtenu pour une température comprise entre 35 °C et 45 °C, et une intensité ultrasonore autour de 200 W. cm⁻².

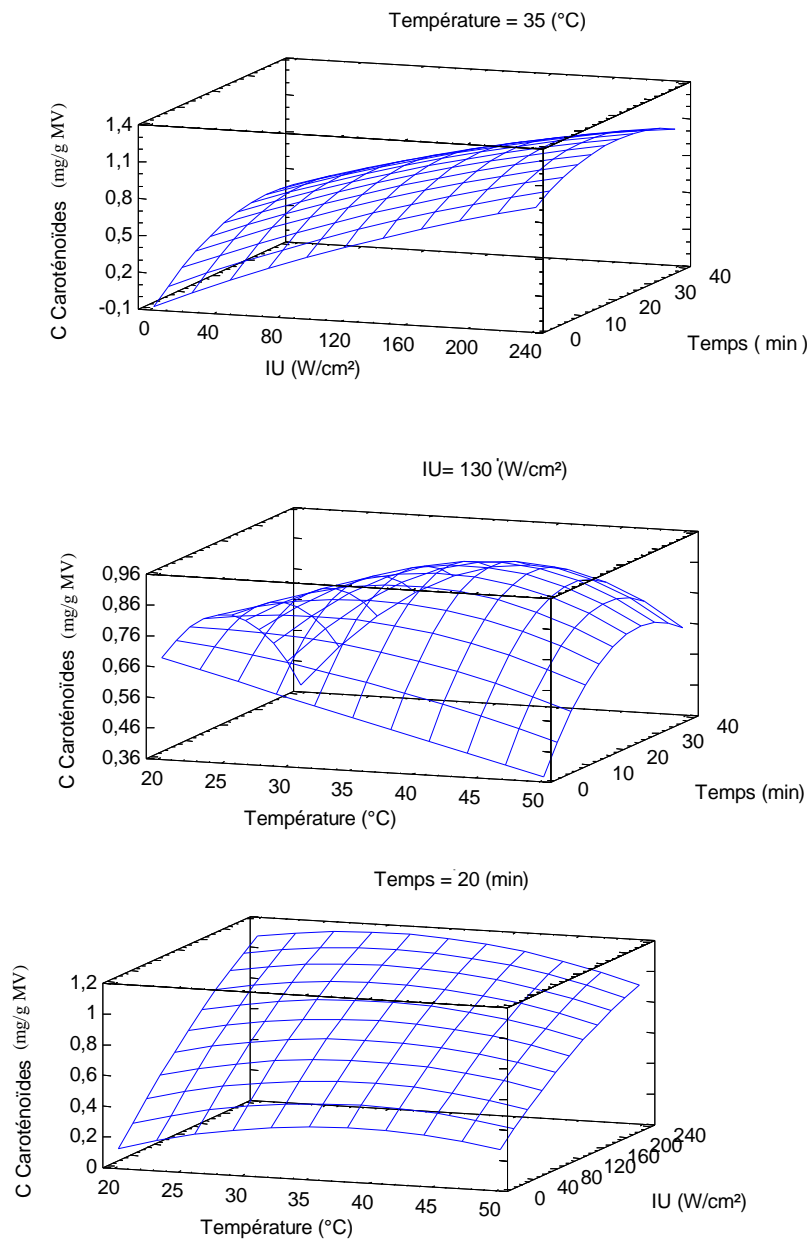


Figure 41 : Surfaces de réponses pour l'extraction des caroténoïdes

III.4.3. Comparaison entre l'extraction assistée par ultrasons (EUS) et l'extraction conventionnelle (EC)

Afin d'évaluer l'impact des ultrasons sur l'extraction des caroténoïdes moyennant le limonène comme solvant vert, une extraction conventionnelle a été réalisée dans les conditions optimales obtenues pour l'extraction assistée par ultrasons mais sans l'utilisation de ces derniers (**T = 20 ° C, t = 5 min, Ratio_{solide} /solvant= 10%**). Les résultats sont représentés sur la Figure 42.

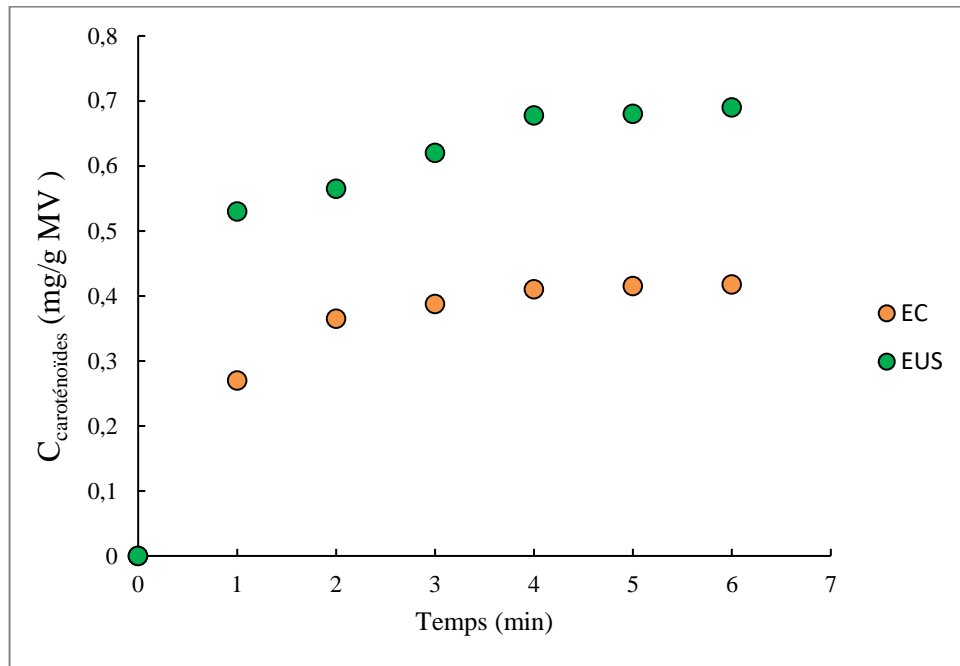


Figure 42 : Comparaison des cinétiques d'extraction par ultrasons et conventionnelle des caroténoïdes

La Figure 42 montre une augmentation de 33 % du rendement pour l'extraction assistée par ultrasons (0,69 mg/ g MV, contre 0,42 mg/ g MV pour l'EC). Cette intensification est due à la propagation d'une vague d'ondes ultrasonores qui provoque un phénomène de cavitation à travers le solvant. L'implosion des bulles de cavitation génère des micro-turbulences ainsi que des collisions à grande vitesse entre les particules au niveau des tissus microporeux de la matrice végétale ce qui accélère la diffusion du soluté et son extraction [188].

Les mêmes observations ont été rapportées par Sun et al. pour l'extraction du trans- β -carotène à partir d'écorces d'agrumes. L'utilisation des ultrasons a permis de tripler le rendement en seulement 20 minutes de traitement [198]. Xu et al., ont remarqué que l'utilisation des ultrasons pour l'extraction du trans-lycopène à partir du pamplemousse rouge a permis de doubler le rendement en seulement 15 minutes d'extraction [197].

III.4.4. Influence du solvant d'extraction

Dans le but de vérifier l'efficacité du limonène dans l'extraction des caroténoïdes comme solvant vert, des essais ont été réalisés avec de l'hexane dans les conditions optimales obtenues pour le limonène. La Figure 43 indique que les rendements en caroténoïdes obtenus sont comparables ce qui place le limonène comme solvant potentiel de substitution à l'hexane pour l'extraction des caroténoïdes.

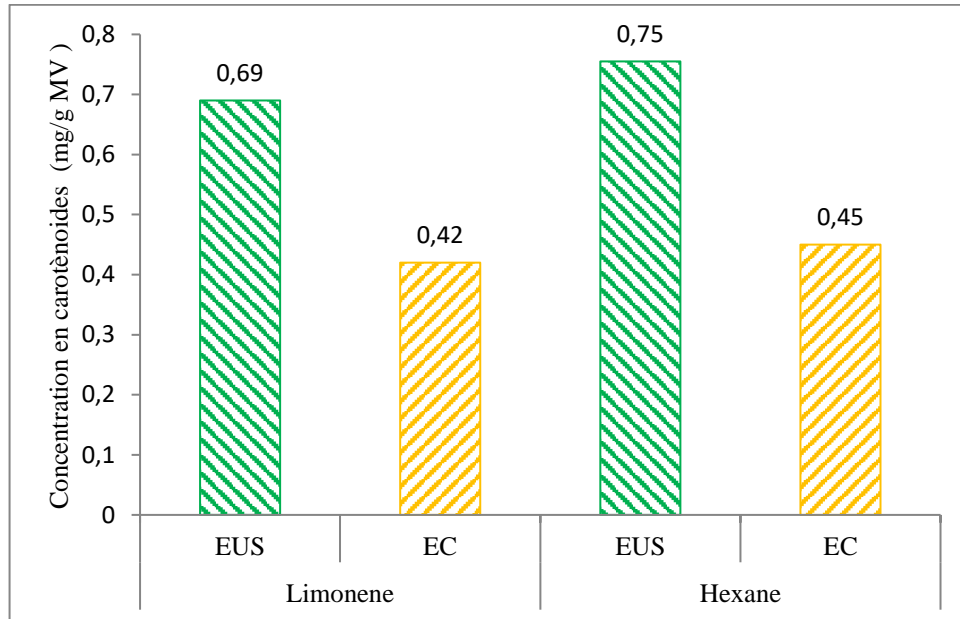


Figure 43 : Influence du solvant sur l'extraction par EUS et EC des caroténoïdes

Des résultats similaires sont rapportés dans la littérature. Virot et al. [105], décrivent une procédure écologique et originale pour la détermination des graisses et huiles à partir de graines oléagineuses en utilisant le d-limonène comme solvant d'extraction, et son efficacité comme solvant en comparaison au n-hexane. Aucune différence significative n'a été remarquée entre chaque extrait, ce qui indique que l'utilisation du d-limonène en tant que solvant vert à la place du n-hexane est efficace et peut constituer un solvant de substitution de l'hexane. D'autre part, le recyclage des solvants permet la récupération de 50 % seulement de l'hexane utilisé, contre 90 % pour le d-limonène.

III.5. BILAN DE LA BIO-RAFFINERIE DES ECORCES D'ORANGE

A l'issu de ce travail, nous avons essayé d'évaluer, à titre indicatif et de manière globale, l'apport du concept de bio-raffinerie proposé, en terme de rendements, gain de temps et de valeur ajoutée. Les calculs ont été faits pour le traitement de 100 kg d'oranges. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau XIV. Il est clair que pour avoir une estimation réelle, il faudrait tenir compte non seulement du fonctionnement mais aussi des investissements que représente l'achat des différents procédés utilisés, sachant que l'investissement lié aux procédés innovants est en général de 25 % plus élevé que pour les technologies conventionnelles [201].

Comme nous pouvons le remarquer, l'intégration de technologies innovantes en l'occurrence les micro-ondes et les ultrasons, a permis d'améliorer les rendements des extraits, et de diminuer les durées de traitement de 93 % pour l'extraction de l'huile essentielle, 50 % pour l'extraction des composés phénoliques et 97 % pour l'extraction des pectines. Cette réduction des temps de traitement se traduit par une diminution de la consommation d'énergie.

D'un point de vue économique, le traitement des co-produits d'oranges par les méthodes conventionnelles permettrait de dégager un chiffre d'affaire de 9757,28 DA. Le chiffre d'affaire dégagé par l'intégration des micro-ondes et des ultrasons serait de 12828,19 DA, soit un gain supplémentaire de 3070,91 DA (soit 24 %, ce qui couvrirait pratiquement l'investissement supplémentaire lié aux procédés innovants).

La comparaison des gains liés à la commercialisation du jus d'orange et des produits issus de la bio-raffinerie des co-produits d'oranges, montre que le traitement des co-produits de l'industrie du jus permettrait de multiplier par un facteur de 2,8 ou 3,7 (selon les méthodes utilisées), le chiffre d'affaire en ajoutant à la vente du jus de fruit celles des ingrédients issus de la bio-raffinerie.

Cette étude démontre amplement la valeur ajoutée aussi bien économique qu'environnementale, apportée par la valorisation des co-produits issus de l'industrie agrumicole.

Tableau XIV : Bilan de la Bio-Raffinerie de 100 kg d'oranges

Bio-Composés	Huile essentielle (g)			Polyphénols (mg)			Pectine (g)		Caroténoïdes (mg)		Jus (kg)	
	MHG	SFME	EV	EUS	EC	MHG	MAE	EC	EUS	EC	Pression	
Durée de traitement (min)	15	22	240	30	60	15	3	120	5	5	5	
Masse d'extrait à partir de 2 kg d'Oranges (400 g d'Ecorces)	6,93	6,59	6,83	Narirutine			1,21	0,92	0,69	0,42	0,43	
				0,55	0,11	Traces						
				Hespéridine								
				1,45	1,18	Traces						
Masse d'extrait à partir de 100 kg d'Oranges (20 kg d'Ecorces)	346,5	329,5	341,5	Narirutine			4840	3680	13,8	8,4	43,3	
				11	2,2	Traces						
				Hespéridine								
				29	23,6	Traces						
Prix Unitaire/ kg (Euros) ^a	10			Narirutine		Hespéridine		20		300		-
				45		100						
Prix Unitaire/ kg (DA) ^b	1190			5355		11900		2380		35700		80
Gains obtenus de la Bio-raffinerie de 100 kg d'Oranges (DA)	412,33	392,10	406,38	Narirutine			11519,2	8758,4	492,66	299,88	3464	
				58,90	11,78	-						
				Hespéridine								
				345,1	280,84	-						

Légende : **a** : Les prix en Euros proviennent d'un site internet de vente industrielle;

b : La conversion des prix en dinars a été faite selon le taux de change de la Banque d'Algérie (Février 2016) : 1 Euro = 119 DA

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le travail de cette thèse porte sur l'application du principe de la bio-raffinerie à la valorisation totale d'un sous-produit important en volume de l'industrie agroalimentaire à savoir les sous-produits de la transformation des agrumes en jus de fruits. L'objectif est d'extraire sans solvant des produits à forte valeur ajoutée et pouvant servir dans divers secteurs tels que le d-limonène comme solvant ou diluant, les pectines comme agents de texturation des aliments ou les polyphénols comme agents antioxydants et de conservation des aliments.

Les objectifs de cette thèse ont été de combiner le principe de la bio-raffinerie avec l'application des technologies innovantes comme le chauffage par micro-ondes et la cavitation ultrasonore. Pour cela nous avons tout d'abord commencé par l'extraction de l'huile essentielle d'orange par trois procédés dont deux innovants : l'hydro-diffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG) et l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME), et un procédé de référence : l'entraînement à la vapeur d'eau (EV). Les résultats ont montré que les procédés d'extractions assistées par micro-ondes sont plus efficaces que l'entraînement à la vapeur d'eau conventionnel. Par ailleurs, l'hydro-diffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG) est plus performant avec un gain de temps de plus de 93 % par rapport à l'EV et de l'ordre de 32 % par rapport à la SFME.

L'extraction des polyphénols a été effectuée selon un nouveau concept basé sur la bio-raffinerie des déchets d'écorces d'orange. La combinaison des micro-ondes, des ultrasons et de l'eau interstitielle recyclée à partir des écorces d'orange, nous a permis d'augmenter de 30 % le rendement en polyphénols par rapport à celui obtenu par simple macération et ce en un temps réduit tout en utilisant uniquement les ressources fournies par l'orange. Ce qui représente une économie d'énergie et un recyclage des déchets.

Deux procédés ont été comparés pour l'extraction des pectines : l'extraction assistée par micro-ondes (EAM), et l'extraction par macération conventionnelle (EC)

et ce en utilisant l'eau de constitution de la plante comme solvant d'extraction. Un temps d'extraction réduit et un meilleur rendement en pectine ont été observés pour l'extraction assistée par micro-ondes.

Le d-limonène, un des produits issus de cette bio-raffinerie, et composé majoritaire de l'huile essentielle d'écorce d'orange, a été valorisé par son utilisation comme bio-solvant pour l'extraction des caroténoïdes ; colorants d'une grande importance pour l'industrie alimentaire. Ce bio-solvant a été comparé au n-hexane (solvant pétrochimique), aussi bien pour les capacités de solvations que pour les propriétés physico-chimiques. Nous avons aussi voulu savoir si la combinaison avec une technique innovante comme les ultrasons pouvait avoir un effet de synergie pour la solvation et l'extraction. Le d-limonène a donné des résultats comparables à ceux obtenus avec l'hexane, ce qui lui permet d'être un potentiel solvant alternatif. En plus, l'application des ultrasons a permis d'augmenter significativement les rendements en caroténoïdes.

Ce travail de recherche a permis de montrer que la combinaison du concept de bio-raffinerie avec des technologies innovantes tels que les micro-ondes et ultrasons utilisés en série permet la valorisation totale des déchets de l'industrie agroalimentaire sans utilisation de solvant et en utilisant la matière végétale en son intégralité. De plus, le concept de bio-raffinerie proposé, démontre amplement la valeur ajoutée aussi bien économique qu'environnementale, apportée par les technologies d'extraction qu'elles soient innovantes ou conventionnelles pour la valorisation des co-produits issus de l'industrie agrumicole.

Comme perspectives à ce travail, l'application du concept de bio-raffinerie proposé à d'autres co-produits de l'industrie agroalimentaire pourrait apporter des solutions aussi bien économiques qu'écologiques aux problèmes posés par le non traitement de ces co-produits.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Bremerhaven, T., *Gestion de déchets organiques : Valorisation des Déchets dans le Secteur Agroalimentaire au Maghreb*, R.d.E.M.p. l'Environnement, Editor. 2011.
2. Hugues de Cherisey, A., *Panorama et potentiel de développement des bioraffineries*. octobre 2010.
3. Wertz, J.-L., *Le bioraffinage ou valorisation optimale de la biomasse*. ValBiom, 2010.
4. ALTERBIO. *AGRUMES*. 2015; Available from: <http://www.alterbio.com/fr/fruits-et-legumes>.
5. Webber, H.J. and L.D. Batchelor, *The citrus industry*. 1943: Univ of California Press.
6. Spreen, T.H. *Projections de la production et de la consommation mondiales d'agrumes en 2010*. 2001. Symposium sur les agrumes, Chine/FAO.
7. FAO, *AGRUMES FRAIS ET TRANSFORMÉS 2012. Statistiques annuelles*
8. Ladanyia, M. and M. Ladaniya, *Citrus fruit: biology, technology and evaluation*. 2010: Academic press.
9. Khan, I.A., *Citrus genetics, breeding and biotechnology*. 2007: CABI.
10. Swingle, W., et al., *The citrus industry*. The citrus industry, 1967. **1**.
11. Tanaka, T., *Fundamental discussion of Citrus classification*. Stud Citrol, 1977. **14**: p. 1-6.
12. Swingle, W.T., *The botany of Citrus and its wild relatives*. The citrus industry, 1967: p. 190-430.
13. Kimball, D., *Citrus processing: quality control and technology*. 2012: Springer Science & Business Media.
14. Bampidis, V. and P. Robinson, *Citrus by-products as ruminant feeds: A review*. Animal Feed Science and Technology, 2006. **128**(3): p. 175-217.
15. Lenze, J., *Huiles royales, Huiles sacrées: Aromathérapie Spirituelle*. 2007: Le Mercure Dauphinois.
16. Imdorf, A., et al., *Use of essential oils for the control of Varroa jacobsoni Oud. in honey bee colonies [screening, treatment, residue]*. Apidologie (France), 1999.
17. Normalisation, A.F.d., *Recueil de normes Françaises "Huiles essentielles"*, . AFNOR, 1986.
18. Bruneton, J., *Pharmacognosy, phytochemistry, Medicinal plants*. 1999, Lavoiser Publishing, France.
19. Bruneton, J., *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales*. 1993.
20. Bakkali, F., et al., *Biological effects of essential oils – A review*. Food and Chemical Toxicology, 2008. **46**(2): p. 446-475.
21. Barceloux, D.G., *Frontmatter*, in *Medical Toxicology of Natural Substances*. 2008, John Wiley & Sons, Inc. p. i-xxi.
22. Gershenzon, J. and N. Dudareva, *The function of terpene natural products in the natural world*. Nat Chem Biol, 2007. **3**(7): p. 408-414.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

23. Burt, S., *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review*. International Journal of Food Microbiology, 2004. **94**(3): p. 223-253.
24. Droby, S., et al., *Role of citrus volatiles in host recognition, germination and growth of Penicillium digitatum and Penicillium italicum*. Postharvest Biology and Technology, 2008. **49**(3): p. 386-396.
25. Fisher, K. and C. Phillips, *Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?* Trends in Food Science & Technology, 2008. **19**(3): p. 156-164.
26. Zahi, M.R., H. Liang, and Q. Yuan, *Improving the antimicrobial activity of d-limonene using a novel organogel-based nanoemulsion*. Food Control, 2015. **50**: p. 554-559.
27. Espina, L., et al., *Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes*. Food control, 2011. **22**(6): p. 896-902.
28. AL-Jabri, N.N. and M.A. Hossain, *Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria*. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 2014. **3**(4): p. 247-253.
29. Pino, J., et al., *Chemical composition of orange oil concentrates*. Food/Nahrung, 1992. **36**(6): p. 539-542.
30. Moufida, S.d. and B. Marzouk, *Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange*. Phytochemistry, 2003. **62**(8): p. 1283-1289.
31. Badee, A.Z.M., S.A. Helmy, and N.F.S. Morsy, *Utilisation of orange peel in the production of α -terpineol by Penicillium digitatum (NRRL 1202)*. Food Chemistry, 2011. **126**(3): p. 849-854.
32. Mellouk, k., *Étude des activités antioxydante et antimicrobienne des flavonoïdes et des fractions flavoniques de la partie aérienne de Pituranthos chloranthus (Guezzeh) de la région de Biskra*. 2014.
33. Dangles, O. and R. Brouillard, *Polyphenol interactions. The copigmentation case: thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics. Medium effect*. Canadian Journal of Chemistry, 1992. **70**(8): p. 2174-2189.
34. Sarni-Manchado, P. and V. Cheynier, *Polyphenols in food products*. 2006: Editions Tec & Doc.
35. Baborun, T., *Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle*. Université de Maurice. AMAS. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, 1997: p. 83.
36. Saeed, N., M.R. Khan, and M. Shabbir, *Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts Torilis leptophylla L.* BMC complementary and alternative medicine, 2012. **12**(1): p. 221.
37. Ghedira, K., *Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique*. Phytothérapie, 2005. **3**(4): p. 162-169.
38. Chira, K., et al., *Les polyphénols du raisin*. Phytothérapie, 2008. **6**(2): p. 75-82.
39. Hertog, M.G., P.C. Hollman, and B. Van de Putte, *Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices*. Journal of agricultural and food chemistry, 1993. **41**(8): p. 1242-1246.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

40. Arts, I.C., B. van de Putte, and P.C. Hollman, *Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods*. Journal of agricultural and food chemistry, 2000. **48**(5): p. 1746-1751.
41. Hopkins, W.G., *Physiologie végétale*. 2003: De Boeck Supérieur.
42. Da Porto, C., D. Decorti, and I. Kikic, *Flavour compounds of Lavandula angustifolia L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods*. Food Chemistry, 2009. **112**(4): p. 1072-1078.
43. Jadhav, D., et al., *Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction*. Journal of Food Engineering, 2009. **93**(4): p. 421-426.
44. Tomás-Barberán, F., F. Ferreres, and M. Gil, *Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing*. Studies in natural products chemistry, 2000. **23**: p. 739-795.
45. Lapornik, B., M. Prošek, and A.G. Wondra, *Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time*. Journal of food engineering, 2005. **71**(2): p. 214-222.
46. Bruneton, J., *Plantes Médicinales, Pharmacognosie, Phytochimie*. Tec et Doc, Paris, 1999.
47. Rock, E. and A. Fardet, *Les antioxydants des agrumes: action en solitaire ou matricielle?* Phytothérapie, 2014. **12**(2): p. 66-75.
48. Reddy, L., B. Odhav, and K. Bhoola, *Natural products for cancer prevention: a global perspective*. Pharmacology & therapeutics, 2003. **99**(1): p. 1-13.
49. González-Molina, E., et al., *Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2010. **51**(2): p. 327-345.
50. Hwang, S.-L., P.-H. Shih, and G.-C. Yen, *Neuroprotective effects of citrus flavonoids*. Journal of Agricultural and Food chemistry, 2012. **60**(4): p. 877-885.
51. El-Shafae, A.M. and M.M. El-Domiaty, *Improved LC methods for the determination of diosmin and/or hesperidin in plant extracts and pharmaceutical formulations*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2001. **26**(4): p. 539-545.
52. Britton, G. and F. Khachik, *Carotenoids in Food*, in *Carotenoids*, G. Britton, H. Pfander, and S. Liaaen-Jensen, Editors. 2009, Birkhäuser Basel. p. 45-66.
53. Howitt, C.A. and B.J. Pogson, *Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues*. Plant, Cell & Environment, 2006. **29**(3): p. 435-445.
54. Cazzonelli, C.I. and B.J. Pogson, *Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants*. Trends in plant science, 2010. **15**(5): p. 266-274.
55. Rao, A.V. and L.G. Rao, *Carotenoids and human health*. Pharmacological Research, 2007. **55**(3): p. 207-216.
56. Krinsky, N.I. and E.J. Johnson, *Carotenoid actions and their relation to health and disease*. Molecular Aspects of Medicine, 2005. **26**(6): p. 459-516.
57. Saini, R.K., S.H. Nile, and S.W. Park, *Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities*. Food Research International, 2015. **76, Part 3**: p. 735-750.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

58. Moore, T., *Vitamin A and carotene: The absence of the liver oil vitamin A from carotene. VI. The conversion of carotene to vitamin A in vivo.* Biochemical Journal, 1930. **24**(3): p. 692.
59. Giroux, i., *Chirurgie bariatrique: déficiences en vitamines/minéraux.* 2015.
60. Bhaskaram, P., *Micronutrient malnutrition, infection, and immunity: an overview.* Nutrition Reviews, 2002. **60**(suppl 5): p. S40-S45.
61. Das, A., et al., *An update on microbial carotenoid production: application of recent metabolic engineering tools.* Applied microbiology and biotechnology, 2007. **77**(3): p. 505-512.
62. Granado, F., et al., *Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992. **40**(11): p. 2135-2140.
63. Seddon, J., et al., *Dietary carotenoids, vitamin-A, vitamin-C, and vitamin-E, and advanced age-related macular degeneration.* Jama-Journal of the American Medical Association, 1994. **272**(18): p. 1413-1420.
64. Brown, L., et al., *A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men.* The American journal of clinical nutrition, 1999. **70**(4): p. 517-524.
65. Thiberville, L. and G. Nouvet, *Dérivés de la vitamine A et prévention des cancers bronchiques.* Revue des maladies respiratoires, 1996. **13**(2): p. 193-196.
66. Nicol, M. and M. Maudet, *Caroténoïdes et vitamine A. Actualités.* Oléagineux, Corps gras, Lipides, 2000. **7**(3): p. 266-270.
67. Bjelke, E., *Dietary vitamin A and human lung cancer.* International Journal of Cancer, 1975. **15**(4): p. 561-565.
68. Nishino, H., et al., *Carotenoids in cancer chemoprevention.* Cancer and Metastasis Reviews, 2002. **21**(3-4): p. 257-264.
69. Jaswir, I., et al., *Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry.* J. Med. Plants Res, 2011. **5**(33): p. 7119-7131.
70. Pincemail, J., et al., *Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires.* Medisphère, 1999. **93**: p. 47-49.
71. Yeum, K.-J., et al., *Antioxidant/pro-oxidant actions of carotenoids, in Carotenoids.* 2009, Springer. p. 235-268.
72. Tian, B., et al., *Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from Deinococcus radiodurans through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2007. **1770**(6): p. 902-911.
73. Maeda, H., et al., *Dietary combination of fucoxanthin and fish oil attenuates the weight gain of white adipose tissue and decreases blood glucose in obese/diabetic KK-Ay mice.* J. of Agricultural and Food Chemistry, 2007. **55**(19): p. 7701-7706.
74. Ikeuchi, M., et al., *Effects of astaxanthin in obese mice fed a high-fat diet.* Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 2007. **71**(4): p. 893-899.
75. Bonnie, T.Y. and Y. Choo, *Oxidation and thermal degradation of carotenoids.* Journal of Oil Palm Research, 1999. **11**: p. 62-78.
76. Liu, G.-N., Y.-H. Zhu, and J.-G. Jiang, *The metabolomics of carotenoids in engineered cell factory.* Applied microbiology and biotechnology, 2009. **83**(6): p. 989-999.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

77. Lee, P. and C. Schmidt-Dannert, *Metabolic engineering towards biotechnological production of carotenoids in microorganisms*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002. **60**(1-2): p. 1-11.
78. Bramley, P., *The genetic enhancement of phytochemicals: the case of carotenoids*. Phytochemical functional foods, 2003: p. 253-279.
79. Bhosale, P. and P.S. Bernstein, *Microbial xanthophylls*. Applied microbiology and biotechnology, 2005. **68**(4): p. 445-455.
80. Schmidt-Dannert, C., *Engineering novel carotenoids in microorganisms*. Current opinion in biotechnology, 2000. **11**(3): p. 255-261.
81. Gérard, T., *Pectines*. Techniques de l'ingénieur Additifs et adjuvants alimentaires, 2010. **base documentaire : TIB426DUO**(ref. article : f5000).
82. Mishra, R., A. Banthia, and A. Majeed, *Pectin based formulations for biomedical applications: a review*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 2012. **5**(4): p. 1-7.
83. Videcoq, P., et al., *Influence of calcium on pectin methylesterase behaviour in the presence of medium methylated pectins*. Carbohydrate Polymers, 2011. **86**(4): p. 1657-1664.
84. Olliver, M., *Laboratory assessment of pectin quality with special reference to jelly grading*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1950. **1**(11): p. 329-336.
85. Rolin, C. and J. De Vries, *Pectin*, in *Food gels*. 1990, Springer. p. 401-434.
86. Bergman, M., et al., *Effect of citrus pectin on malignant cell proliferation*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2010. **64**(1): p. 44-47.
87. Chen, C.-H., et al., *Suppression of endotoxin-induced proinflammatory responses by citrus pectin through blocking LPS signaling pathways*. Biochemical pharmacology, 2006. **72**(8): p. 1001-1009.
88. Flint, H.J., et al., *Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis*. Nat Rev Microbiol, 2008. **6**(2): p. 121-31.
89. Yanakieva, I., V. Kussovski, and M. Kratchanova, *Isolation, characterization and modification of citrus pectins*. 2012.
90. Cheng, H., et al., *Comparative studies of the antiproliferative effects of ginseng polysaccharides on HT-29 human colon cancer cells*. Medical oncology, 2011. **28**(1): p. 175-181.
91. Hensel, A. and K. Meier, *Pectins and xyloglucans exhibit antimutagenic activities against nitroaromatic compounds*. Planta medica, 1999. **65**(5): p. 395-399.
92. Gómez-Guillén, M., et al., *Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review*. Food Hydrocolloids, 2011. **25**(8): p. 1813-1827.
93. Cho, Y., et al., *A chemoprotective fish oil/pectin diet enhances apoptosis via Bcl-2 promoter methylation in rat azoxymethane-induced carcinomas*. Experimental Biology and Medicine, 2012. **237**(12): p. 1387-1393.
94. Avivi-Green, C., et al., *Dietary regulation and localization of apoptosis cascade proteins in the colonic crypt*. Journal of cellular biochemistry, 2000. **77**(1): p. 18-29.
95. Funami, T., et al., *Structural modifications of sugar beet pectin and the relationship of structure to functionality*. Food Hydrocolloids, 2011. **25**(2): p. 221-229.
96. Matsumoto, T., et al., *Stimulatory effect of a pectic polysaccharide from a medicinal herb, the roots of Bupleurum falcatum L., on G-CSF secretion from*

- intestinal epithelial cells*. International immunopharmacology, 2008. **8**(4): p. 581-588.
97. INRS, *Les solvants organiques*. 2009.
98. Cicolella, A., *Les composés organiques volatils (COV): définition, classification et propriétés*. Revue des Maladies Respiratoires, 2008. **25**(2): p. 155-163.
99. Weast, R.C., *Handbook of physics and chemistry*. CRC Press, Boca Raton, 1983–1984, 1986.
100. Pascale, D.C. and T.R. Sophie, *Biosolvants*. Techniques de l'ingénieur Innovations en environnement, 2008. **base documentaire : TIB517DUO**(ref. article : in102).
101. Bewa, H. and C. Alfos, *Le marché des agrosolvants*. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 2005. **12**(4): p. 295-298.
102. Chemat, S., V. Tomao, and F. Chemat, *Limonene as green solvent for extraction of natural products*, in *Green Solvents I*. 2012, Springer. p. 175-186.
103. Chemat-Djenni, Z., et al., *Carotenoid extraction from tomato using a green solvent resulting from orange processing waste*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2010. **13**(2): p. 139-147.
104. Virot, M., et al., *New microwave-integrated Soxhlet extraction: an advantageous tool for the extraction of lipids from food products*. Journal of chromatography A, 2007. **1174**(1): p. 138-144.
105. Virot, M., et al., *Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination: microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation*. Journal of chromatography A, 2008. **1196**: p. 147-152.
106. Bertouche, S., et al., *First approach on moisture determination in food products using alpha-pinene as an alternative solvent for Dean–Stark distillation*. Food Chemistry, 2012. **134**(1): p. 602-605.
107. Bertouche, S., et al., *First approach on edible oil determination in oilseeds products using alpha-pinene*. Journal of Essential Oil Research, 2013. **25**(6): p. 439-443.
108. Meyer-Warnod, B., *Natural essential oils: extraction processes and application to some major oils*. Perfumer & flavorist, 1984. **9**(2): p. 93-104.
109. Penchev, P.I., *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*. 2010.
110. Clevenger, J., *Apparatus for volatile oil determination, Description of New Type*. American Perfumer & Essential Oil Review, 1928: p. 467-503.
111. Bruneton, J., *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 4e éd, revue et augmentée, Paris, Tec & Doc, Éditions médicales internationales, 1288p. Dibong SD, Mpondo Mpondo E, Ngoye A, Kwin NF, Betti JL. 2011a. Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales vendues sur les marchés de Douala, Cameroun*. Journal of Applied Biosciences, 2009. **37**: p. 2496-2507.
112. Craveiro, A., et al., *Microwave oven extraction of an essential oil*. Flavour and fragrance journal, 1989. **4**(1): p. 43-44.
113. Lucchesi, M.-E., *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. 2005, Université de la Réunion.

114. Mengal, P. and B. Mompon, *Procédé et installation d' extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes*. Brevet Européen, EP, 1996. **698**(076): p. B1.
115. Mengal, P., et al., *VMHD: extraction d'huile essentielle par micro-ondes*. Parfums, cosmétiques, arômes, 1993(114): p. 66-67.
116. Stashenko, E.E., B.E. Jaramillo, and J.R. Martínez, *Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian Xylopia aromatica (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography*. Journal of Chromatography A, 2004. **1025**(1): p. 105-113.
117. Stashenko, E.E., B.E. Jaramillo, and J.R. Martínez, *Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of Lippia alba (Mill.) NE Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity*. Journal of Chromatography A, 2004. **1025**(1): p. 93-103.
118. Sahraee, S. and K. Rezaei, *Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from Ziziphora clinopodioides Lam.* 2012.
119. Golmakani, M.T. and K. Rezaei, *Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from Zataria multiflora Boiss.* European journal of lipid science and technology, 2008. **110**(5): p. 448-454.
120. Rezvanpanah, S., et al., *Use of Microwave-assisted Hydrodistillation to Extract the Essential Oils from Satureja hortensis and Satureja montana*. Food science and technology research, 2008. **14**(3): p. 311-314.
121. Thi, N.D.T., T.H. Anh, and L.N. Thach, *The essential oil composition of Eryngium foetidum L. in South Vietnam extracted by hydrodistillation under conventional heating and microwave irradiation*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2008. **11**(2): p. 154-161.
122. Iriti, M., et al., *Histo-cytochemistry and scanning electron microscopy of lavender glandular trichomes following conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils: a comparative study*. Flavour and fragrance journal, 2006. **21**(4): p. 704-712.
123. Chemat, F., J. Smadja, and M.-E. Lucchesie, *Solvent Free Micro-wave extraction of volatile natural compound*. Brevet Européen, EP, 2004. **1**(439218): p. B1.
124. Chemat, F., M. Lucchesi, and J. Smadia, *Solvent-free microwave extraction of volatile natural substances*. 2004, Google Patents.
125. Sahraoui, N., et al., *Improved microwave steam distillation apparatus for isolation of essential oils: comparison with conventional steam distillation*. Journal of Chromatography A, 2008. **1210**(2): p. 229-233.
126. Chemat, F., M. Vian, and F. Visinoni, *Microwave Hydrodiffusion for Isolation of Natural Products*. 2008, Google Patents.
127. Farhat, A., et al., *Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy: experimental and theoretical study*. Journal of Chromatography A, 2009. **1216**(26): p. 5077-5085.
128. Farhat, A., *Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application*. 2010, Université d'Avignon; Ecole nationale d'ingénieurs de Gabès.
129. Wang, N., et al., *Investigation of six bioactive anthraquinones in slimming tea by accelerated solvent extraction and high performance capillary*

- electrophoresis with diode-array detection*. Food Chemistry, 2016. **199**: p. 1-7.
130. Zarnowski, R. and Y. Suzuki, *Expedient Soxhlet extraction of resorcinolic lipids from wheat grains*. Journal of Food composition and Analysis, 2004. **17**(5): p. 649-663.
131. Pétrier, C., N. Gondrexon, and P. Boldo, *Ultrasons et sonochimie*. Techniques de l'ingénieur. Sciences fondamentales, 2008(AF6310).
132. Michel, P., *Applications industrielles des fluides supercritiques et équipements de mise en œuvre*. Techniques de l'ingénieur Production des médicaments, 2010. **base documentaire : TIB610DUO**(ref. article : j4950).
133. Corporation, D., *Les systèmes ASE : l'extraction accélérée par solvant* 2010.
134. Heistercamp, M., et al., *Les Micro-ondes*.
135. Heistercamp, M., et al., *Les Micro-ondes*. 2002.
136. Delazar, A., et al., *Microwave-assisted extraction in natural products isolation*, in *Natural products isolation*. 2012, Springer. p. 89-115.
137. Seguin, M. and B. Villeneuve. *Astronomie et Astrophysique*. 12/02/2016]; Available from: <http://astro.vision.free.fr/images/micron3.jpg>.
138. Goupy, J. and L. Creighton, *Introduction aux plans d'expériences-3ème édition-Livre+ CD-Rom*. 2006: Dunod.
139. Kim, J., et al., *Review of microwave assisted manufacturing technologies*. International Journal of Precision Engineering and Manufacturing, 2012. **13**(12): p. 2263-2272.
140. Setyaningsih, W., et al., *Optimisation and validation of the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from rice grains*. Food chemistry, 2015. **169**: p. 141-149.
141. Fang, X., et al., *Simultaneous extraction, identification and quantification of phenolic compounds in Eclipta prostrata using microwave-assisted extraction combined with HPLC–DAD–ESI–MS/MS*. Food Chemistry, 2015. **188**: p. 527-536.
142. Bhuyan, D.J., et al., *Microwave-assisted extraction of Eucalyptus robusta leaf for the optimal yield of total phenolic compounds*. Industrial Crops and Products, 2015. **69**: p. 290-299.
143. Garofulić, I.E., et al., *The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (Prunus cerasus var. Marasca)*. Journal of Food Engineering, 2013. **117**(4): p. 437-442.
144. Ho, K., et al., *Microwave-assisted extraction of lycopene in tomato peels: Effect of extraction conditions on all-trans and cis-isomer yields*. LWT-Food Science and Technology, 2015. **62**(1): p. 160-168.
145. Lianfu, Z. and L. Zelong, *Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes*. Ultrasonics Sonochemistry, 2008. **15**(5): p. 731-737.
146. Dijkstra, A. and J. Segers, *Production and refining of oils and fats*. The Lipid Hand Book, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, 2007: p. 143-262.
147. Benaissi, K., *Le CO2 supercritique appliqué à l'extraction végétale*. Techniques de l'ingénieur Développement de solvants alternatifs et intensification des procédés, 2013. **base documentaire : TIB492DUO**(ref. article : chv4015).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

148. Araujo, G.S., et al., *Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: prospection of the optimal extraction method*. Ultrasonics sonochemistry, 2013. **20**(1): p. 95-98.
149. ElKhorri, S., et al., *The microwave-assisted process (MAP TM1): Extraction and determination of fat from cocoa powder and cocoa nibs*. Journal of food engineering, 2007. **79**(3): p. 1110-1114.
150. ANIZON, J.-Y., B. LEMAIRE, and M. SURBLED, *Extraction assistée par micro-ondes*. Techniques de l'ingénieur. Agroalimentaire, 2003. **2**(F3060): p. F3060. 1-F3060. 11.
151. Jean-Yves, A., L. Benoît, and S. Michel, *Extraction assistée par micro-ondes*. Techniques de l'ingénieur Opérations unitaires du génie industriel alimentaire, 2003. **base documentaire : TIB430DUO**(ref. article : f3060).
152. Bruneau, M. and A. Hladky-Hennion, *MEMS acoustiques*. Livre blanc de l'acoustique en France en 2010, 2010: p. 80.
153. Knorr, D., et al., *Applications and potential of ultrasonics in food processing*. Trends in Food Science & Technology, 2004. **15**(5): p. 261-266.
154. Griffin, X., et al., *L'ultrasonothérapie des fractures osseuses chez l'adulte permet-il d'accélérer la cicatrisation de l'os et de réduire les complications?* Health, 2011.
155. Kennedy, J.E., et al., *Contrast-enhanced ultrasound assessment of tissue response to high-intensity focused ultrasound*. Ultrasound in medicine & biology, 2004. **30**(6): p. 851-854.
156. Kennedy, J., et al., *High-intensity focused ultrasound for the treatment of liver tumours*. Ultrasonics, 2004. **42**(1): p. 931-935.
157. Tardoski, S., *Traitement des métastases osseuses par association d'un bisphosphonate avec des ultrasons de faible intensité*. 2015, Université Claude Bernard-Lyon I.
158. Merigui, K., *Application des méthodes de contrôle non destructif (CND) aux assemblages soudés des pipelines: cas d'un oléoduc endommagé*. 2013, Université M'hamed Bougara de Boumerdès.
159. Hihn, J.-Y. and R. Viennet, *Les ultrasons de puissance pour le nettoyage*. Traitements & matériaux, 2013. **422**: p. 22-24.
160. Bermúdez-Aguirre, D., T. Mobbs, and G.V. Barbosa-Cánovas, *Ultrasound applications in food processing*, in *Ultrasound technologies for food and bioprocessing*. 2011, Springer. p. 65-105.
161. Joyce, E., et al., *The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured Bacillus species*. Ultrasonics sonochemistry, 2003. **10**(6): p. 315-318.
162. Mason, T.J., L. Paniwnyk, and F. Chemat, *Ultrasound as a preservation technology*. Food preservation techniques, 2003: p. 303-337.
163. Metherel, A.H., et al., *The application of ultrasound energy to increase lipid extraction throughput of solid matrix samples (flaxseed)*. Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids, 2009. **81**(5): p. 417-423.
164. Laugier, F., *Les ultrasons en procédés polyphasiques: transfert Gaz-Liquide, réaction Liquide-Liquide*. 2007.
165. Chemat, F. and N. Hoarau, *Hazard analysis and critical control point (HACCP) for an ultrasound food processing operation*. Ultrasonics Sonochemistry, 2004. **11**(3): p. 257-260.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

166. Hægström, E. and M. Luukkala, *Ultrasound detection and identification of foreign bodies in food products*. Food Control, 2001. **12**(1): p. 37-45.
167. Elmehdi, H., J. Page, and M. Scanlon, *Using ultrasound to investigate the cellular structure of bread crumb*. Journal of Cereal Science, 2003. **38**(1): p. 33-42.
168. Zhang, D.-Y., et al., *Ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry leaves and their effect on enhancing antioxidant activity*. Carbohydrate polymers, 2016. **137**: p. 473-479.
169. Samaram, S., et al., *Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability*. Food chemistry, 2015. **172**: p. 7-17.
170. Petigny, L., et al., *Batch and continuous ultrasound assisted extraction of boldo leaves (Peumus boldus Mol.)*. International journal of molecular sciences, 2013. **14**(3): p. 5750-5764.
171. Lebovka, N., E. Vorobiev, and F. Chemat, *Enhancing extraction processes in the food industry*. 2011: CRC Press.
172. Trambouze, P. and J.-P. Wauquier, *Le développement des procédés de raffinage et de pétrochimie*. Vol. 3. 1975: Éditions Technip.
173. Goupy, J., *La méthode des plans d'expériences: optimisation du choix des essais & de l'interprétation des résultats*. 1988: Dunod.
174. Pillet, M. *Viser la cible pour une meilleure maîtrise des procédés une meilleure qualité des produits*. in *7eme Journée des CPIM de France 1997*. 1997.
175. Goupy, J., *La méthode des plans d'expérience, optimisation des choix des essais & de l'interprétation des résultats*. 1995, Paris: Dunod.
176. Goupy, J., *Pratiquer les plans d'expériences*. 2005: Dunod Paris.
177. Khan, M.K., et al., *Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel*. Food Chemistry, 2010. **119**(2): p. 851-858.
178. Pingret, D., et al., *Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace*. Journal of food engineering, 2012. **111**(1): p. 73-81.
179. Liu, S.X. and P.K. Mamidipally, *Quality comparison of rice bran oil extracted with d-limonene and hexane*. Cereal chemistry, 2005. **82**(2): p. 209-215.
180. Mamidipally, P.K. and S.X. Liu, *First approach on rice bran oil extraction using limonene*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2004. **106**(2): p. 122-125.
181. Joye, D. and G. Luzio, *Process for selective extraction of pectins from plant material by differential pH*. Carbohydrate Polymers, 2000. **43**(4): p. 337-342.
182. Périno-Issartier, S., et al., *A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation*. Journal of Chromatography A, 2013. **1305**: p. 41-47.
183. Sahraoui, N., et al., *Valorization of citrus by-products using Microwave Steam Distillation (MSD)*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011. **12**(2): p. 163-170.

184. Farhat, A., et al., *Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism*. Food Chemistry, 2011. **125**(1): p. 255-261.
185. Filly, A., et al., *Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: from laboratory to pilot and industrial scale*. Food chemistry, 2014. **150**: p. 193-198.
186. Qi, X.-L., et al., *Solvent-free microwave extraction of essential oil from pigeon pea leaves [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] and evaluation of its antimicrobial activity*. Industrial Crops and Products, 2014. **58**: p. 322-328.
187. Boukroufa, M., et al., *Bio-refinery of orange peels waste: a new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin*. Ultrasonics sonochemistry, 2015. **24**: p. 72-79.
188. Shirsath, S., S. Sonawane, and P. Gogate, *Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—a review of current status*. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2012. **53**: p. 10-23.
189. Kong, Y., et al., *Optimization of microwave-assisted extraction of cajaninstilbene acid and pinostrobin from pigeonpea leaves followed by RP-HPLC-DAD determination*. Journal of food composition and analysis, 2010. **23**(4): p. 382-388.
190. Herrera, M. and M.L. De Castro, *Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection*. Journal of Chromatography A, 2005. **1100**(1): p. 1-7.
191. Yu, H.B., et al. *Study on Extraction of Polyphenol from Grape Peel Microwave-Assisted Activity*. in *Advanced Materials Research*. 2014. Trans Tech Publ.
192. Pinelo, M., et al., *Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. **53**(6): p. 2111-2117.
193. Bagherian, H., et al., *Comparisons between conventional, microwave-and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit*. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2011. **50**(11): p. 1237-1243.
194. Maran, J.P., et al., *Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel*. Carbohydrate polymers, 2013. **97**(2): p. 703-709.
195. Pingret, D., A.-S. Fabiano-Tixier, and F. Chemat, *Degradation during application of ultrasound in food processing: a review*. Food Control, 2013. **31**(2): p. 593-606.
196. Dey, S. and V.K. Rathod, *Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis**. Ultrasonics sonochemistry, 2013. **20**(1): p. 271-276.
197. Xu, Y. and S. Pan, *Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-trans-lycopene from red grapefruit (*Citrus paradise* Macf.)*. Ultrasonics sonochemistry, 2013. **20**(4): p. 1026-1032.
198. Sun, Y., et al., *Effects of different factors of ultrasound treatment on the extraction yield of the all-trans- β -carotene from citrus peels*. Ultrasonics sonochemistry, 2011. **18**(1): p. 243-249.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

199. Sun, Y., et al., *Stability of all-trans- β -carotene under ultrasound treatment in a model system: Effects of different factors, kinetics and newly formed compounds*. Ultrasonics sonochemistry, 2010. **17**(4): p. 654-661.
200. Li, Y., et al., *Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids based on the bio-refinery concept using sunflower oil as an alternative solvent*. Ultrasonics sonochemistry, 2013. **20**(1): p. 12-18.
201. Chemat, F., *Éco-extraction du végétal: procédés innovants et solvants alternatifs*. 2011: Dunod.

ANNEXES

I. DETERMINATION DU TAUX D'HUMIDITE

La détermination du taux d'humidité des matières végétales utilisées a été effectuée à l'aide d'un analyseur d'humidité KERN DBS 60-3 selon le mode opératoire qui suit :

L'échantillon à analyser est réparti en couche mince et uniforme sur la coupelle en aluminium afin d'obtenir des résultats reproductibles. Après avoir réglé les paramètres de dessiccation à savoir la température, et le programme de chauffage, le programme de dessiccation est lancé. La lecture du taux d'humidité de l'échantillon analysé est effectuée une fois le programme de dessiccation terminé.

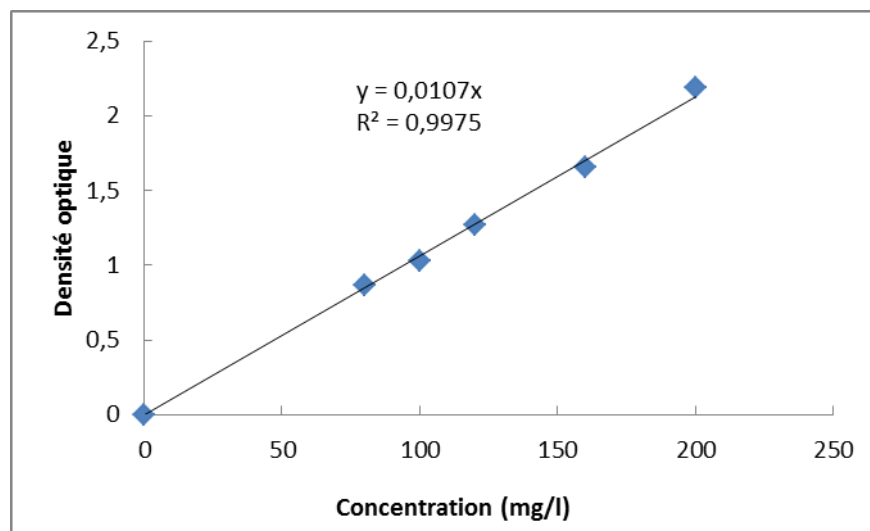


II. COURBE D'ETALONNAGE POUR LE DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

La détermination de la teneur en polyphénols totaux se fait par rapport à un composé phénolique de référence ; dans ce cas il s'agit de l'acide gallique. Pour ce faire, une courbe d'étalonnage donnant les variations de l'absorbance en fonction de la concentration en acide gallique est tracée. La gamme d'étalonnage est effectuée de la façon suivante :

A partir d'une solution mère d'acide gallique de concentration massique connue, des dilutions de différentes concentrations sont préparées.

20 μ L de chaque solution sont mélangés avec 2 mL de réactif de Folin-Ciocalteu, et 1 mL de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7 %). Le mélange est laissé au repos à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante puis l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 760 nm.



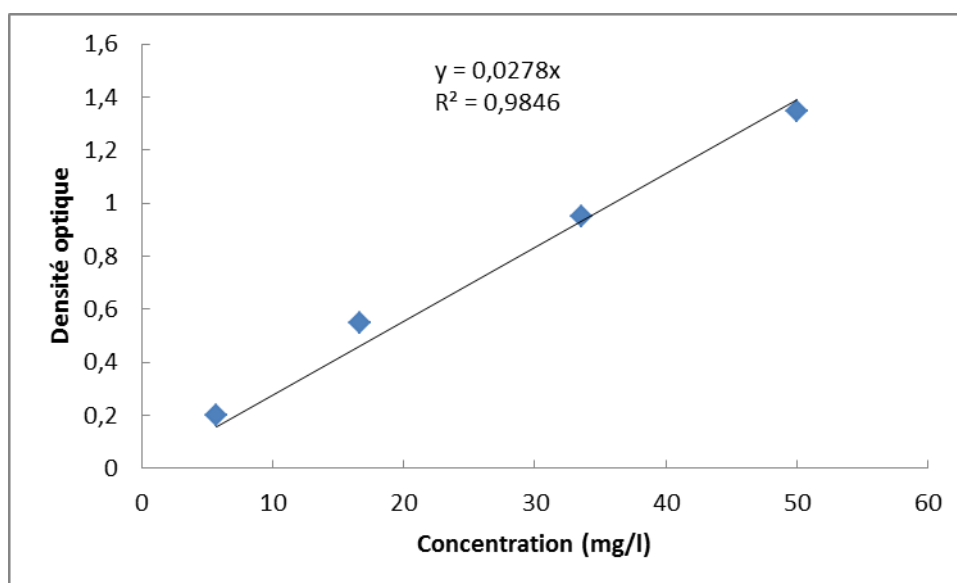
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

III. COURBES D'ETALONNAGE POUR LE DOSAGE DES CAROTENOÏDES

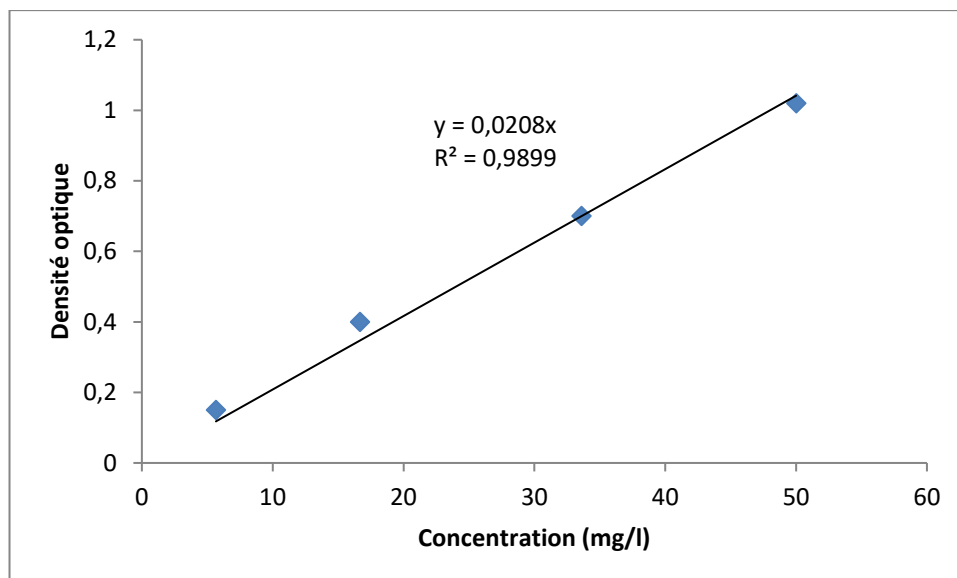
La détermination de la teneur en caroténoïdes se fait par rapport au β -carotène utilisé comme standard. Pour ce faire, une courbe d'étalonnage donnant les variations de l'absorbance en fonction de la concentration en β -carotène a été tracée. La gamme d'étalonnage est effectuée de la façon suivante :

A partir d'une solution mère de β -carotène de concentration massique connue (dans le limonène ou l'hexane), des dilutions de différentes concentrations sont préparées.

L'absorbance de chaque solution est ensuite mesurée à 450 nm contre un blanc préparé à partir du solvant utilisé (d-limonène ou n-hexane).



Courbe d'étalonnage du β -carotène dans l'hexane



Courbe d'étalonnage du β -carotène dans le limonène