

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

كلية العلوم الطبيعية والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Biothérapie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Valorisation des déchets d'agrumes par la production de bio-arômes et de la pectine

Par : **MOUSSAOUI Menar**

Le 13/07/2023

Jury d'évaluation :

Encadreur : Pr KACEM CHAOUICHE Noredine

Prof UFM, Constantine 1

Examineur 1 : Dr. ZITOUNI Hind

MCB UFM, Constantine 1

Examineur 2 : Dr. BOUDOUKANI Meriem

MCA UFM, Constantine 1

Année universitaire 2022 – 2023

Remerciements

D'abord, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné la santé et la volonté pour entamer et terminer ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur Noredine KACEM CHAOUICHE, mon encadreur, pour son soutien continu et ses précieux conseils et ses critiques constructives qui m'ont permis de réaliser ce travail. Sa guidance éclairée a été éléments clés pour la réussite de ce projet.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude envers Madame Akila BENAÏSSA pour son soutien inestimable dans la fourniture de l'équipement nécessaire à la réalisation de ce projet.

Je souhaite également remercier chaleureusement toute l'équipe de la plateforme technologique, notamment Monsieur Younes, Rabah, Riad et l'ingénieur physiciens, Azzedine, pour leur accueil exceptionnel et leur assistance précieuse dans la fabrication d'une partie de l'appareil. Leur expertise et leur dévouement ont grandement contribué à la réalisation de ce projet.

Un grand merci également à Monsieur Abdallah Bouzana pour son soutien considérable tout au long de cette expérience. Sa contribution a été d'une importance capitale dans les moments où j'ai eu besoin d'aide.

Enfin, mes remerciements vont également à Monsieur Karim pour son aide et son encouragement constant. Ses précieux conseils et son soutien indéfectible ont été une source de motivation tout au long de ce projet.

Je suis sincèrement reconnaissante envers toutes les personnes mentionnées ci-dessus pour leur soutien et leur contribution à la réalisation de ce projet. Leur expertise et leur gentillesse ont grandement facilité mon parcours, et je suis honorée d'avoir eu la chance de travailler avec une équipe aussi formidable.

Dédicaces

À mon idole, à mon amour éternel, à celui qui a marqué mes premiers pas et qui m'a portée sur son dos et me porte toujours dans son cœur... À mon seul héros que j'adore, mon cher papa Djemal.

À mon ange, mon paradis, à celle qui m'a donné la vie et éclairé mes jours qui m'a amené là où je suis... À ma vie, ma chère maman Aziza,

*À ma chère sœur **Nihad**, pour ses encouragements permanents, et son soutien moral.*

*À mes chers frères **Souhaib et Salah Eddine** pour leur appui et leur encouragement.*

À toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infallible,

Merci d'être toujours là pour moi.

À mes très chères copines, Basma, Insaf et Zaineb ; qui ont partagé avec moi les moments heureux et difficiles de ce travail.

Ces mots ne suffiront pas pour exprimer tout ce que j'ai sur le cœur et toute la gratitude que je porte, vous êtes pour moi des sœurs plus que des amies.

Résumé :

La présente recherche se concentre sur la valorisation des déchets d'agrumes en vue de la production de bio-arômes et de pectine. Le déchet utilisé ici est, exclusivement, les écorces de fruits d'oranges et de citrons. Pour ce faire, trois méthodes d'extraction ont été appliquées et comparées en l'occurrence ; l'hydrodistillation traditionnelle, l'extraction assistée par micro-ondes sans solvant, et la méthode novatrice proposée ici, reposant sur la combinaison des technologies d'extraction, assistée par micro-ondes VapoilWaves. L'objectif principal recherché par cette approche est l'amélioration du rendement en bio-arômes et en pectine, et l'amoindrissement du temps de l'extraction. Le point fort de cette technique est l'absence de tout produit chimique, ce que la qualifie comme étant respectueuse de l'environnement. Dans la méthode traditionnelle, l'hydrodistillation a été employée, impliquant la distillation des déchets d'agrumes en présence d'eau en tant que solvant. Ce procédé a permis la séparation des composés volatils et l'extraction des bio-arômes. En revanche, la méthode de l'extraction assistée par micro-ondes sans solvant, repose sur utilisation des fréquences spécifiques générant de micro-ondes qui chauffent l'échantillon se trouvant dans de l'eau. Ce procédé facilite la libération des bio-arômes présents dans les déchets d'agrumes. La méthode innovante VapoilWaves repose sur l'utilisation des microondes pour éclater les cellules végétales des déchets, libérant les arômes, qui seront entraînés par la vapeur vers le système de distillation. La vapeur, produite par un générateur de vapeur installé à l'extérieur, traverse l'échantillon et entraîne, par gravité, les arômes libérés vers le bas et sera réceptionnée par le système de distillation pour séparation. Cette approche, exempte de tous produits chimiques, exploite l'exposition de l'échantillon aux micro-ondes pour améliorer la libération des composés volatils, tout en mettant en œuvre un protocole innovant afin de maximiser l'efficacité de l'extraction des biomatériaux et de la pectine. Les rendements de cette technique sont nettement supérieurs à ceux obtenus par les deux méthodes précédentes. En effet, les essais sur le citron ont donné des rendements de 2,1% avec VapoilWaves, tandis que, avec l'hydrodistillation, le rendement était seulement de 0,39%. De même, pour les essais sur l'orange, la VapoilWaves a enregistré un rendement de 2,87% contre 0,59% pour l'hydrodistillation assistée par micro-ondes. Cette méthode offre des perspectives prometteuses quant au potentiel de valorisation des déchets d'agrumes pour la production de bio-arômes et de pectine. En effet, la méthode VapoilWaves a abouti à des résultats satisfaisants, offrant, ainsi, une alternative efficace et durable pour l'extraction de composés précieux à partir des déchets d'agrumes à moindre coûts.

Mots clés : Déchets d'agrumes, Bio-arômes, Pectine, Extraction, Valorisation, Micro-Ondes.

Abstract:

The present research focuses on the valorization of citrus waste for the production of bio-flavors and pectin. The waste used here exclusively consists of orange and lemon peels. To achieve this, three extraction methods were applied and compared, namely traditional hydrodistillation, solvent-free microwave-assisted extraction, and the innovative method proposed here, based on the combination of microwave-assisted extraction technologies, VapoilWaves. The main objective of this approach is to improve the yield of bio-flavors and pectin while reducing the extraction time. One of the strengths of this technique is the absence of any chemical products, which qualifies it as environmentally friendly.

In the traditional method, hydrodistillation was employed, involving the distillation of citrus waste in the presence of water as a solvent. This process allowed for the separation of volatile compounds and the extraction of bio-flavors. On the other hand, the solvent-free microwave-assisted extraction method relies on the use of specific frequencies that generate microwaves, which heat the sample in water. This process facilitates the release of bio-flavors present in citrus waste.

The innovative VapoilWaves method is based on the use of microwaves to rupture the plant cells of the waste, releasing the flavors, which are then carried by steam to the distillation system. The steam, produced by an external steam generator, passes through the sample and gravity carries the released flavors downwards to be collected by the distillation system for separation. This chemical-free approach utilizes microwave exposure to enhance the release of volatile compounds while implementing an innovative protocol to maximize the efficiency of biomaterial and pectin extraction.

The yields obtained with this technique are significantly higher than those achieved by the two previous methods. For example, trials on lemons yielded 2.1% with VapoilWaves, while hydrodistillation yielded only 0.39%. Similarly, for orange trials, VapoilWaves recorded a yield of 2.87% compared to 0.59% for microwave-assisted hydrodistillation. This method offers promising prospects for the valorization of citrus waste for the production of bio-flavors and pectin. Indeed, the VapoilWaves method has yielded satisfactory results, thus providing an effective and sustainable alternative for extracting valuable compounds from citrus waste at lower costs.

Keywords : Citrus waste, Bio-flavors, Pectin, Extraction, Valorization, Microwaves.

ملخص:

البحث الحالي يركز على استغلال نفايات الحمضيات لإنتاج الروائح العضوية والبكتين. وتتمثل النفايات المستخدمة هنا حصراً في قشور البرتقال والليمون. ولذا، تم تطبيق ومقارنة ثلاث طرق إستخراج، على وجه التحديد؛ التقطير المائي التقليدي، واستخراج بالميكروويف بدون مذيب، والطريقة المبتكرة المقترحة هنا، التي تعتمد على مزيج تكنولوجيات الاستخراج، بمساعدة ميكروويف VapoiWaves. الهدف الرئيسي المسعى لهذا النهج هو تحسين عائدات الروائح العضوية والبكتين، وتقليل وقت الاستخراج. ونقوم هنا بالتأكيد على قوة هذه التقنية بعدم وجود أي مواد كيميائية، مما يجعلها ملائمة للبيئة. في الطريقة التقليدية، تم استخدام التقطير المائي، مما ينطوي على تقطير نفايات الحمضيات بوجود الماء كمذيب. وقد سمح هذا العملية بفصل المركبات الطاردة واستخراج الروائح العضوية. بالمقابل، تعتمد طريقة استخراج بالميكروويف بدون مذيب على استخدام ترددات محددة تولد موجات الميكروويف التي تسخن العينة في الماء. ويسهل هذه العملية تحرير الروائح العضوية الموجودة في نفايات الحمضيات. تعتمد الطريقة المبتكرة VapoiWaves على استخدام الميكروويف لتفجير خلايا النبات في النفايات، مما يحرر الروائح التي ستتم إزالتها بواسطة البخار إلى نظام التقطير. يمر البخار، الذي يتم إنتاجه بواسطة مولد بخار مثبت في الخارج، من خلال العينة ويحمل، بفعل الجاذبية، الروائح المحررة نحو الأسفل ويتم استقبالها بواسطة نظام التقطير للفصل. يستغل هذا النهج، الخالي من أي مواد كيميائية، تعرض العينة للميكروويف لتحسين تحرير المركبات الطاردة، مع تنفيذ بروتوكول مبتكر لتعظيم كفاءة استخراج المواد الحيوية والبكتين. تتجاوز عائدات هذه التقنية بكثير تلك التي تم الحصول عليها بواسطة الطريقتين السابقتين. فعلى سبيل المثال، أعطت التجارب على الليمون عائدات بنسبة 2.1% باستخدام VapoiWaves، في حين كانت العائدات فقط 0.39% باستخدام التقطير المائي. وبالمثل، حققت VapoiWaves عائداً بنسبة 2.87% مقابل 0.59% لاستخراج البرتقال بالميكروويف المساعد على التقطير. توفر هذه الطريقة أفاقاً واعدة بالنسبة لاستغلال نفايات الحمضيات لإنتاج الروائح العضوية والبكتين. فبالفعل، أدت طريقة VapoiWaves إلى نتائج مرضية، وبالتالي توفر بديلاً فعالاً ومستداماً استخلاص المركبات الثمينة من نفايات الحمضيات بتكاليف أقل.

الكلمات الرئيسية: نفايات الحمضيات، الروائح العضوية، البكتين، الاستخراج، الاستغلال، الميكروويف.

Liste des figures

Figure 1: Les formes d'agrumes.	14
Figure 2: Anatomie des agrumes.	16
Figure 3: Classifications des saveurs dans les aliments et les boissons et contribution des composés chimiques à divers arômes.	19
Figure 4: Principaux composants aromatisants dans les aliments liquides et leurs propriétés physiques (hydrophobicité et solubilité).	20
Figure 5: Schéma de montage de l'hydrodistillation.	25
Figure 6 : Schéma de montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.	26
Figure 7: Schéma de dispositif de l'hydro-diffusion.	26
Figure 8: Schéma du procédé de l'extraction par CO ₂ supercritique.	27
Figure 9: Schéma de montage de l'extraction sans solvant assisté par micro-ondes.	28
Figure 10: Extraction aux ultrasons bac et sonde.	28
Figure 11: fruits d'agrumes (oranges).	34
Figure 12: fruits d'agrumes (citrons).	34
Figure 13: boîtes de Pétri contenant des milieux sélectifs.	38
Figure 14: obtention de suspensions bactériennes.	39
Figure 15: Préparation des disques.	40
Figure 16 : Protocole de détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode des disques.	40
Figure 17: Préparation de la suspension fongique.	42
Figure 18: Principe de la méthode de la diffusion sur gélose.	42
Figure 19 : Bio-arômes d'orange et de citron.	48
Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du radical OH•.	51
Figure 21: IC ₅₀ des différents échantillons.	51
Figure 22: étude l'activité antioxydant.	52
Figure 23: Pectine extraite.	53
Figure 24: Analyse colorimétrique de la pectine.	53

Liste des tableaux

Tableau 1: Taux des constituants les plus importants de bio-arômes issues des peaux de fruits d'Agrumes.....	23
Tableau 2: Souches microbiennes testée	38
Tableau 3 : Souches fongique testées	41
Tableau 4: Rendements en bio-arômes des agrumes explorés	46
Tableau 5: Indices de la densité de bio-arômes d'agrumes.....	47
Tableau 6 : Caractéristiques organoleptiques des bio-arômes d'agrumes explorés	47
Tableau 7: Résultats de l'activité antibactérienne des bio-arômes obtenus.....	48
Tableau 8: Résultats de l'activité antifongiques des bio-arômes.....	50
Tableau 9: Rendement de la pectine	52

Liste d'abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

av. J.-C. : avant Jésus-Christ

BAs: Bio-Aromas (bio-arômes)

DMSO: Dimethyl Sulfoxide (diméthyl sulfoxyde)

EAU : Extraction-Assisted Ultrasonication (extraction assistée par ultrasons)

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments (European Food Safety Authority)

FDA : Food and Drug Administration (Administration des denrées alimentaires et des médicaments)

GRAS : Generally Recognized as Safe (généralement reconnu comme sûr)

HD : Hydrodistillation (hydrodistillation traditionnelle)

Hz : Hertz (hertz)

IC50 : Inhibition Concentration 50 (concentration d'inhibition à 50 %)

MAE : Microwave-Assisted Extraction (extraction assistée par micro-ondes)

MHz : Megahertz (mégahertz)

ml : Millilitre (millilitre)

mm : Millimètre

nm : Nanomètre

pH : Potentiel Hydrogène

SFE : Supercritical Fluid Extraction (extraction par fluide supercritique)

v/v: Volume/Volume

Table des matières

Introduction	12
1- Revue bibliographique.....	14
1.1-Les agrumes	14
1.1.1-Généralités sur les agrumes	14
1.2- Les arômes	17
1.2.1- Généralités sur les arômes	17
1.2.2- Production des arômes	17
1.2.3- Classification du composé aromatique	19
1.2.4- Valorisation les écorces d'agrumes pour la production des bio-arômes	21
1.3- Techniques d'extraction	24
1.3.1- Techniques Conventionnelles	24
1.3.2- Techniques d'extraction développées.....	27
1.4- Caractéristiques des bio-arômes (BAs)	28
1.4.1-Propriétés physico-chimiques et organoleptiques	29
1.4.2-Activités biologiques	29
1.5- La pectine.....	30
2-Matériel et méthodes	33
2.1- Matériel végétal (Matière première) :.....	36
2.2- Appareil d'extraction proposé.....	35
2.3- Méthodologie	35
3.3-Test antimicrobienne	48
3.3.1- Test antibactérien	48
3.3.1- Test antibactérien	48
3.3.2-Activité antifongique	50
3.4-Test antioxydant.....	53
3.5- Rendement en pectine.....	52
3.6- Détermination de la teneur en pectine	53
4-Conclusion	58
Références bibliographiques	60

Introduction

Introduction

Les résidus d'écorces d'agrumes sont devenus un défi majeur pour l'industrie du jus et les collectivités locales, avec des millions de tonnes générées chaque année. Cependant, ces déchets renferment des composés bioactifs précieux tels que les bio-arômes, la pectine, les polyphénols et les terpènes. Aussi, l'orientation actuelle au niveau des structures de recherche et de l'industrie est vers la recherche des valeurs ajoutées de ces déchets en explorant des méthodes d'extraction alternatives et complémentaires à l'enfouissement ou à la conversion énergétique totale (M'Hiri, 2015).

Dans le cadre de cette étude, nous proposons une approche novatrice pour une valorisation intégrale de ces sous-produits grâce à l'extraction assistée par micro-ondes et la vapeur. Cette méthode repose sur des équipements simples, offrant rapidité, efficacité et efficacité élevée, ainsi qu'une évolutivité adaptée aux besoins industriels. De plus, elle se conforme aux principes de l'extraction verte en minimisant l'utilisation de solvants et en réduisant l'impact environnemental.

Cette approche prometteuse de l'extraction des composés bioactifs des écorces d'agrumes ouvre de nouvelles perspectives pour la valorisation de ces déchets. Elle contribue non seulement à réduire leur impact environnemental, mais également à exploiter leur potentiel économique en tant que sources précieuses de bio-arômes et de pectine (Bellande, 2009). Cette étude revêt une importance considérable pour l'industrie pharmaceutique et alimentaire et la gestion durable des déchets agricoles (Bellande, 2009).

Par conséquent, les objectifs majeurs de cette recherche sont les suivants :

- Évaluer le potentiel de valorisation des déchets d'écorce d'agrumes en extrayant des composés bioactifs tels que les bio-arômes et la pectine.
- Explorer des méthodes d'extraction innovantes, notamment l'extraction assistée par micro-ondes avec utilisation de la vapeur, afin d'optimiser l'efficacité de l'extraction des précieux composés contenus dans les déchets d'écorce d'agrumes.
- Réduire l'impact environnemental des déchets d'écorces d'agrumes en les valorisant et en exploitant leur potentiel économique et leur valeur ajoutée.
- Développer des techniques d'extraction simples, rapides et respectueuses de l'environnement afin de promouvoir la durabilité et de se conformer aux principes de l'extraction verte dans la valorisation des déchets.

Revue bibliographique

1- Revue bibliographique

1.1-Les agrumes

1.1.1-Généralités sur les agrumes

Les agrumes sont cultivés depuis des milliers d'années et ont joué un rôle important dans l'histoire de l'humanité. Le mot « agrumes » provient du terme latin *acrumen*, qui décrivait les arbres portant des fruits acides dans les temps anciens. Les agrumes sont les fruits des végétaux des genres *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* (famille des Rutaceae), Ces fruits sont connus pour leur goût acidulé, qui est dû à la présence d'acide citrique dans leur composition. Les agrumes renferment ; les citrons, les clémentines, les kumquats, les bergamotes, les limes, les mandarines, les oranges, les pamplemousses, les pomelos, les tangerines et les cédrats (Nicole et François, 2013) Les agrumes ont une longue histoire de culture, avec la première mention enregistrée en Chine ancienne vers 2200 av (Loveday et Garouste, 2019 ; Dabo, 2022). Actuellement, ces fruits sont largement cultivés au Brésil, aux États-Unis et en Chine, étant les plus grands producteurs mondiaux (Spleen et *al.*, 2020). Les commerçants arabes les ont introduits dans la région méditerranéenne au, et les explorateurs européens les ont amenés dans le Nouveau Monde à l'ère de l'exploration (Janick, 2005).



Figure 1: Les formes d'agrumes.

1.1.1.1- Culture des agrumes en Algérie

La culture des agrumes est une pratique agricole importante en Algérie depuis plus d'un siècle, et le pays a été l'un des plus grands producteurs d'agrumes au monde (Schimmenti et *al.*, 2013). La culture des agrumes en Algérie utilise, à la fois, des techniques agricoles traditionnelles et modernes. De ce fait, le pays exporte chaque année une grande quantité d'agrumes vers différents pays du monde et différentes variétés d'oranges, de citrons, de pamplemousses, de

mandarines et de tangerines sont les cultivars les plus couramment plantés (Amrouni, 2016). Cette culture s'est développée principalement dans les zones côtières du pays, notamment dans les plaines de Mitidja, de Chlef, de Skikda, d'Annaba et d'Oran, couvrant une superficie estimée à 50 000 hectares (FAO, 2018). Le développement de ces cultures est dû essentiellement à des conditions adéquates telles que, une bonne précipitation, des températures modérées, un ensoleillement abondant, un bon drainage et une fertilité élevée du sol (FAO, 2020). En effet, la culture des agrumes nécessite en moyenne 140 jours par hectare et par an (Boukhobza, 2021). Le marché algérien des agrumes a également connu une croissance significative ces dernières années. Due essentiellement, à la consommation progressant estimée à 2,2 millions de tonnes en 2020 (www.meys.eu).

1.1.1.2-Importance des agrumes dans l'industrie alimentaire et l'économie en Algérie

L'industrie des agrumes en Algérie revêt une grande importance pour l'économie nationale, générant des revenus considérables, offrant en conséquence, des opportunités d'emploi importantes. Le gouvernement a activement soutenu ce secteur, notamment par des subventions aux agriculteurs et des fonds alloués à la recherche et au développement visant à améliorer la qualité et la quantité des agrumes dans le pays (Laoubi et Yamao, 2009).

Les agrumes sont des ingrédients essentiels dans de nombreux produits culinaires tels que les jus de fruits, les confitures et les desserts, et ils sont très appréciés dans l'industrie alimentaire en raison de leur saveur distinctive et de leur valeur nutritionnelle (Vicente-Sánchez et al., 2021). Ils sont riches en vitamines et en minéraux, ce qui est crucial pour maintenir une bonne santé chez le consommateur (Khan et al., 2021).

Par ailleurs, les agrumes occupent une place prépondérante dans l'industrie pharmaceutique et parapharmaceutique en Algérie, contribuant de manière significative à l'économie nationale tant par les exportations que par la consommation locale. Leur goût exquis les rend indispensables dans le secteur pharmaceutique, et leur croissance continue ces dernières années a consolidé leur position en tant que secteur stratégique pour le pays (FAOSTAT, 2021).

1.1.1.3- La composition d'agrumes

Les agrumes, en particulier les oranges, les citrons, les pamplemousses, les mandarines et les tangerines, sont principalement transformés en jus, constituant ainsi le principal produit final de l'industrie de leurs industries. Selon le cultivar, les agrumes contiennent entre 45 % et 58

% de jus (Suri et al.,2022). Cependant, la production de jus d'agrumes génère également d'importants coproduits, représentant entre 50 % et 70 % du poids total du fruit. Au niveau mondial, la production annuelle de ces coproduits est estimée à près de 10 millions de tonnes (Nieto et al., 2021). Ces coproduits sont composés d'enveloppes (60 à 65 %), de tissus internes (30 à 35 %) et de graines (jusqu'à 10 %) (Nieto et al., 2021). La figure 1 schématise la structure de fruits d'agrumes (Suri et al.,2022).

Les déchets d'agrumes, tels que les pelures et la pulpe, contiennent de nombreux composés bioactifs, tels que des sucres, des fibres, des acides organiques, des acides aminés, des protéines, des minéraux, des polyphénols, des vitamines, des graisses et des arômes bioactifs (principalement le d-limonène), ainsi que de la pectine en grande quantité. Ces composés peuvent être utilisés dans diverses industries (González-Molina, 2021) (Sharma et al.,2021). La pectine, en exemple, est largement utilisée dans l'industrie alimentaire en tant qu'agent gélifiant et stabilisant, tandis que, les huiles essentielles sont utilisées dans la production de parfums et d'arômes.

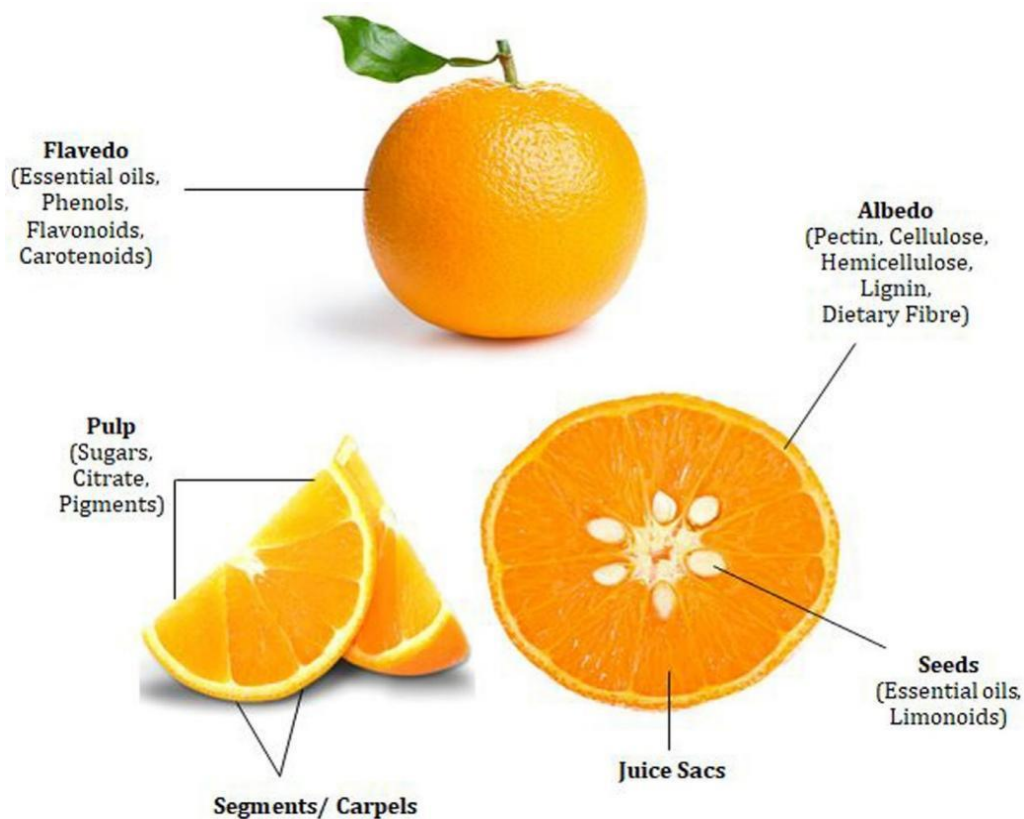


Figure 2: Anatomie des agrumes (Suri et al., 2022).

1.2- Les arômes

1.2.1- Généralités sur les arômes

Les arômes sont des substances chimiques ou naturelles qui ont une odeur ou un goût caractéristique (Du et *al.*, 2021). Ils sont, largement, utilisés pour ajouter de la saveur ou du parfum aux aliments, boissons, produits de soins personnels et produits ménagers. Selon l’Autorité européenne de sécurité des aliments (Trisha et *al.*, 2022) « les arômes sont définis comme des substances ou des mélanges de substances dont la fonction principale est de donner de la saveur à un aliment » (EFSA, 2016 ; Chéné, 2022).

Les arômes peuvent être synthétiques ou naturels. Les arômes synthétiques sont fabriqués en laboratoire par des procédures chimiques, tandis que, les arômes naturels sont dérivés de sources naturelles telles que, les plantes, les fruits ou les légumes. Les arômes naturels sont, souvent, considérés comme plus sains et plus sûrs que les arômes synthétiques, car ils proviennent de sources naturelles et sont exempts de produits chimiques synthétiques (Areekal et *al.*, 2023).

Les arômes sont utilisés dans une grande variété de produits alimentaires et de boissons, comme les bonbons, les boissons gazeuses, les produits de boulangerie et les produits laitiers. Ils sont également utilisés dans les produits de soins personnels, comme les parfums, les savons et les lotions, ainsi que dans les produits ménagers, comme les désodorisants et les nettoyeurs (Chandrasekaran, 2015). Cependant, l’utilisation des arômes dans les aliments et d’autres produits est réglementée par diverses autorités, comme l’EFSA de l’Union européenne et la FDA des États-Unis, pour assurer leur salubrité et leur qualité. Par exemple, l’EFSA établit la sécurité des substances aromatisants utilisées dans les aliments et fixe des niveaux maximums pour leur utilisation (EFSA, 2016). La FDA réglemente également l’utilisation des arômes dans les aliments et a établi une liste de substances aromatisants, généralement reconnues comme sûres (GRAS) (FDA, 2019).

1.2.2- Production des arômes

Les arômes peuvent être classés en trois types principaux : chimique, naturel identique et naturel, selon leur méthode de production (figure 3). Pour ce faire, la législation de l’Union européenne divise les saveurs en deux familles :

Les arômes naturels dérivés de matières animales ou végétales et les arômes artificiels (Commission européenne, 2012).

1.2.2.1- Les arômes naturels

Les arômes naturels sont obtenus par des procédés physiques, biologiques ou enzymatiques, à partir de matières végétales ou animales, tout en respectant les normes du Codex Alimentaires. Ces normes stipulent que seuls les arômes naturels ont subi des transformations autorisées et sont présents en petites quantités (Commission du Codex Alimentarius, 2019). La poudre de cannelle extraite de l'écorce du cannelier, l'eugénol, une molécule aromatique naturellement présente dans le girofle, et le limonène présent dans les agrumes sont des exemples de parfums naturels (Commission européenne, 2012).

1.2.2.2- Les arômes naturels identiques

Les arômes naturels identiques sont fabriqués en laboratoire à l'aide des mêmes composés chimiques que ceux trouvés dans les naturels (Rowe, 2012). Ces parfums sont chimiquement identiques aux composés présents dans les matériaux naturels, mais ils sont souvent moins coûteux et de qualité plus constante que leurs équivalents naturels (Commission européenne, 2012). Comme exemple, la vanilline est le principal composant de l'extrait de vanille.

1.2.2.3- Les arômes chimiques

Les arômes chimiques sont synthétisés en laboratoire et conçus pour imiter l'odeur des matériaux naturels (Commission européenne, 2012). Ces parfums sont souvent moins chers et plus faciles à produire que des parfums naturels ou similaires. Toutefois, certaines personnes peuvent avoir des préoccupations au sujet de sa sécurité et des effets possibles sur la santé (Burger, 2019). Les arômes de fruits artificiels comme la fraise, le raisin et la pomme, ainsi que les parfums floraux comme la rose et la lavande sont des exemples de parfums chimiques (Zhu et Xiao, 2022).

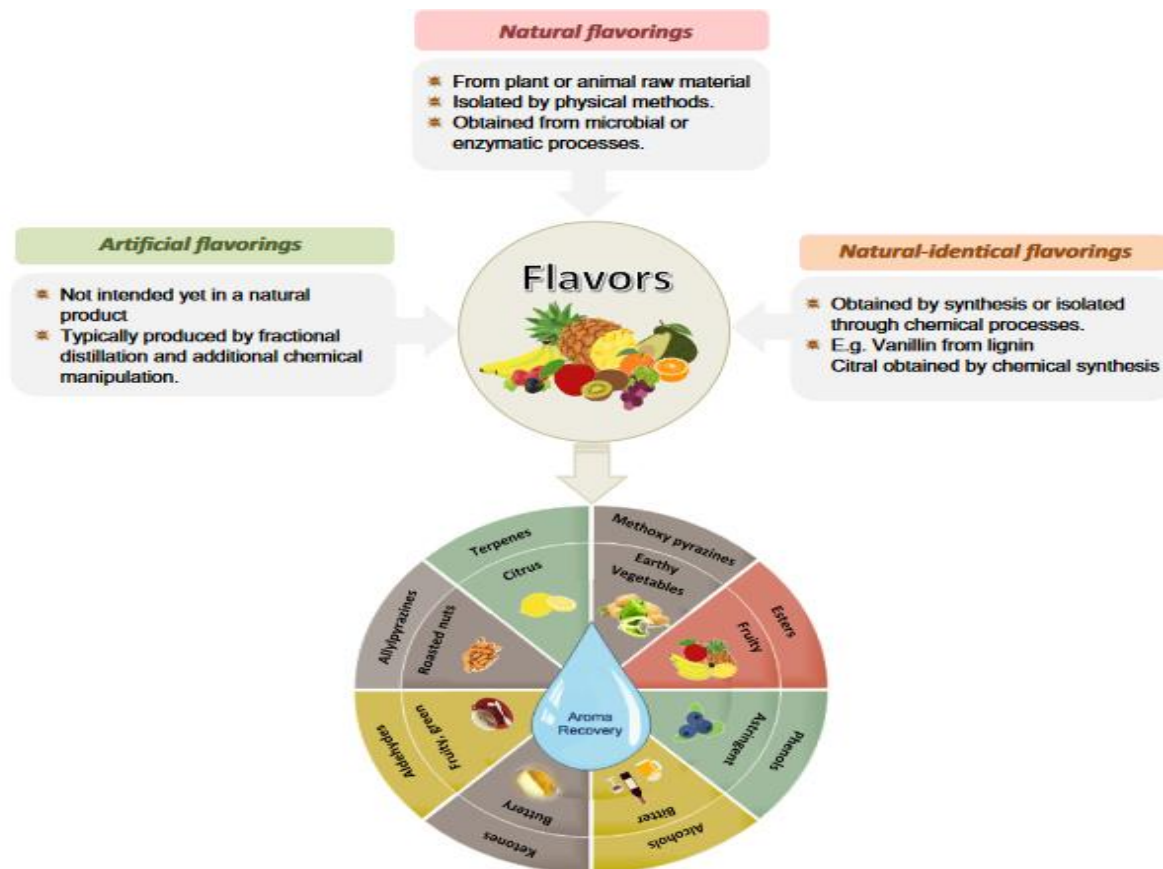
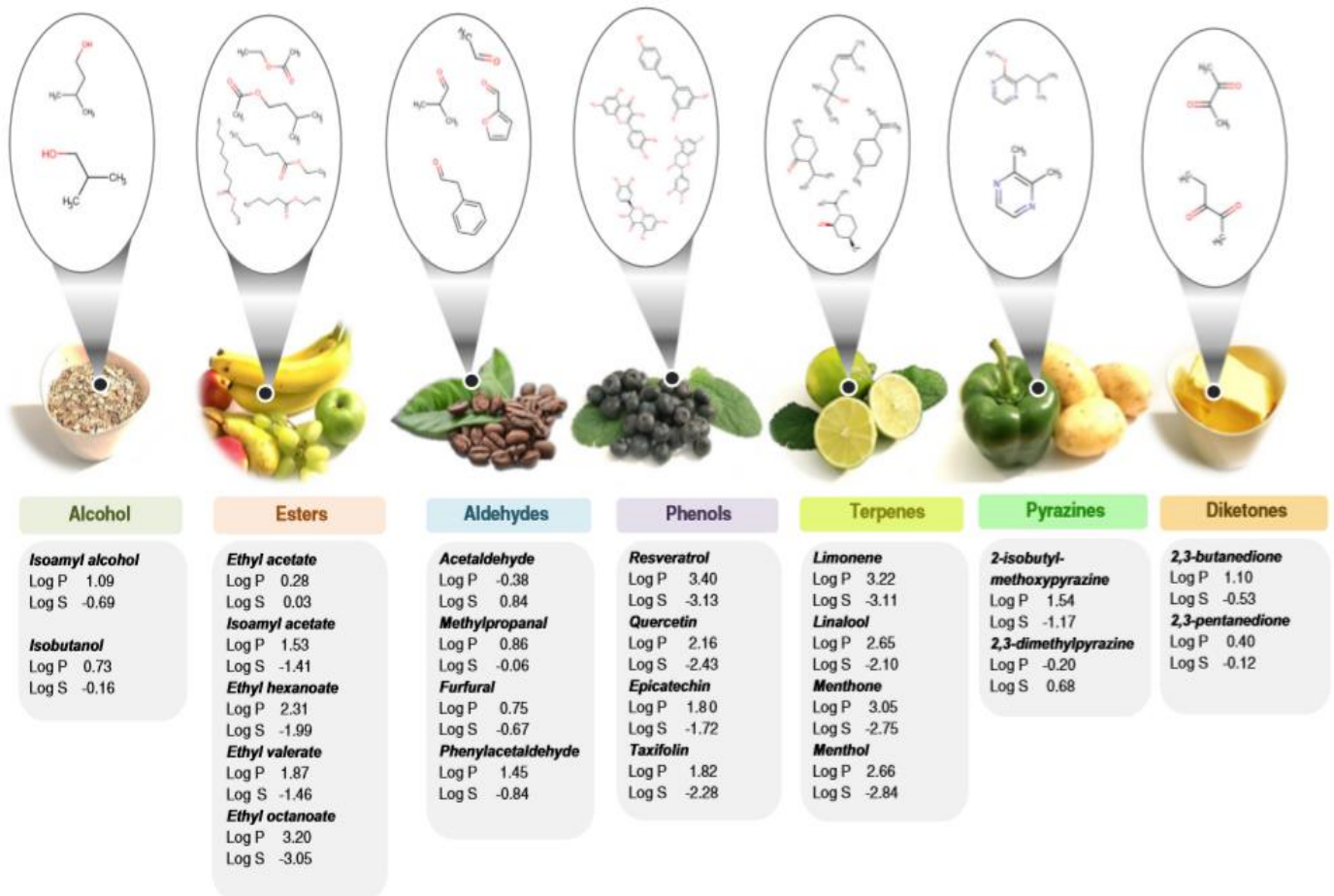


Figure 3: Classifications des saveurs dans les aliments et les boissons et contribution des composés chimiques à divers arômes (Branen, 2002 ; Food additives, 2012).

1.2.3- Classification du composé aromatique

Les saveurs des aliments peuvent être classées, en différentes catégories, en fonction de leurs propriétés chimiques et sensorielles. Selon la Figure 4. Les principales classes de composés aromatiques dans les aliments comprennent les aldéhydes, les cétones, les esters, les lactones, les terpènes, les pyrazines et les composés contenant du soufre. Ces composés contribuent au goût et à l'arôme de la nourriture (Reyrolle, 2022).



Les alcools et les esters sont des composés volatils qui apportent des notes fruitées et florales à la saveur des aliments. On les trouve couramment dans les fruits, comme les pommes, les bananes et les fraises, ainsi que dans les boissons alcoolisées, comme le vin et la bière (Dragone et al., 2009).

1.2.3.3- Phénols

Les phénols sont des composés aromatiques qui apportent des notes fumées, épicées et médicinales à la saveur des aliments. On les trouve dans de nombreux aliments d'origine végétale, comme les herbes, les épices et les noix grillées (Jeleń et Gracka, 2016).

1.2.3.4- Terpènes

Les terpènes sont une grande classe de composés organiques qui contribuent à la saveur et à l'arôme de nombreux aliments, en particulier les fruits et les légumes. Ils sont responsables des parfums caractéristiques des herbes et des épices, ainsi que de l'arôme des agrumes (Schwab et al., 2008).

1.2.3.5- Pyrazines

Les pyrazines sont une classe de composés qui apportent des notes de noisette, de chaleur et de terre à la saveur des aliments. On les trouve dans de nombreux aliments torréfiés et grillés, y compris le café (Chen-Yen-Sun, 2014).

1.2.3.6- Dicétones

Les dicétones sont des composés qui apportent des notes de beurre et de crème à la saveur des aliments. On les trouve couramment dans les produits laitiers, comme le beurre, la crème et le fromage (Clark et Winter, 2015).

En plus de la classification chimique des composés aromatiques, les arômes peuvent également être classés en fonction de leurs caractéristiques organoleptiques. Selon la figure 5 Les cinq goûts de base sont le sucré, l'acide, l'amer et le salé. La douceur se révèle par la présence de sucres ou d'édulcorants artificiels. L'acidité est détectée par la présence d'acides. L'amertume est détectée par la présence d'alcaloïdes ou de composés à nouveau. La salinité est détectée par la présence de sodium ou d'autres sels.

1.2.4- Valorisation des écorces d'agrumes pour la production des bio-arômes

Les écorces d'agrumes, qui sont habituellement jetées comme déchets, sont une riche source de composés bioactifs qui ont de nombreuses applications dans l'industrie alimentaire, en particulier dans la production de saveurs. L'utilisation des écorces d'agrumes pour produire des saveurs a gagné en importance ces dernières années, car c'est un moyen durable et rentable d'ajouter des saveurs uniques et complexes aux produits alimentaires (Baker, et *al.*, 2021).

1.2.4.1- La composition chimique des bio-arômes d'origine d'agrumes

La composition chimique des écorces d'agrumes est diverse et complexe, avec plus de 150 composés (Moshonas et Shaw, 1979). Il s'agit notamment d'hydrocarbures terpéniques (monoterpènes, sesquiterpènes), alcools, esters, aldéhydes, cétones et acides organiques volatils (Tableau 4).

Les composés volatils soufrés, tels que le sulfure d'hydrogène, le sulfure de diméthyle, le méthanthiol et le disulfure de diméthyle, à des concentrations de l'ordre de la ppm. Au cours d'une saison, la quantité de sulfure d'hydrogène diminue considérablement, principalement en raison de l'augmentation de la fréquence des gelées nocturnes plutôt que d'une maturation normale. De plus, le sulfure de diméthyle peut être responsable du mauvais goût des jus d'agrumes (Shaw et *al.*, 1981).

Le (+) -limonène, un hydrocarbure monoterpénique, est présent dans les bio-arômes d'agrumes à une concentration variant entre 80 et 95 %. Les terpènes oxygénés, quant à eux, représentent environ 5 % la composition des bio-arômes et confèrent des caractéristiques aromatiques distinctes à chaque espèce d'agrumes (Stanley, 1962). La composition des substances volatiles diffère significativement, tant sur le plan qualitatif que quantitatif, entre les différentes espèces d'agrumes. Parmi les composants prédominants, on trouve les hydrocarbures monoterpéniques tels que l' α -pinène, l' α -thujène, le camphène, le β -pinène, le sabinène, le myrcène, le Δ -3-carène, l' α -phellandrène, l' α -terpinène, le β -terpinène, le p-cymène, le terpinolène, le p-isopropenyltoluène et le 2,4-p-menthadiène. Les sesquiterpènes incluent la cubébène, le copaène, l'élémente, le caryophyllène, le farnésène, l' α -humulène, le valencène et le Δ -cardinène (Hunter et Brogden, 1965). Parmi les sesquiterpènes, le valencène revêt une importance particulière (Hunter et Brogden, 1965).

Les esters, bien qu'ils ne représentent qu'une fraction faible des bio-arômes d'agrumes en termes de quantité, contribuent significativement à leur arôme caractéristique. Parmi les esters importants identifiés, citons le formate d'éthyle, le caprylate d'éthyle, l'acétate de Lina Lyle, l'acétate d'octyle, l'acétate de nonyle, l'acétate de décyle, l'acétate de terpinyle, l'acétate de géranyle, l'éthyl-3-hydroxyhexanoate, le butyrate de citronellyle, le butyrate de géranyle, l'anthranilate de méthyle et le méthyl-N-méthylanthranilate. Il convient de noter que le butyrate d'éthyle est présent en quantité significative dans l'huile essentielle d'orange (Shaw, 1979 ; Wolford et al., 1971 ; Ikeda et Spitler, 1964).

Les aldéhydes et les cétones, en tant que composés carbonylés, revêtent une importance significative dans le processus de formation des bio-arômes des agrumes (Stanley et al., 1961). Les aldéhydes terpéniques tels que le néral et le gèranial contribuent à l'arôme caractéristique des citrons, tandis que la cétone sesquiterpénique nootkatone est un élément majeur dans l'arôme du jus de pamplemousse (MacLeod et Buigues, 1964). Il convient de mentionner que le valencène subit une oxydation en présence de chromate de tétrabutyle, ce qui permet de produire la cétone sesquiterpénique nootkatone (Hunter et Brogden, 1965). Dans la formation des arômes des oranges, les aldéhydes et les cétones, en tant que composés carbonylés, revêtent une importance substantielle. Parmi ces composés, on distingue le 2-hexanal, le n-octanal, le n-décanal et le gèranial. Des traces d'acétaldéhyde, d'acétone, de n-butyraldéhyde, de n-hexane, de méthyl éthyl cétone, de n-heptane, de n-nonanal, de furfural, de méthylhepténone, de citronellal, de n-undécanal, de n-dodécanal, de néral, de carvone, de périlaldéhyde, de piperiténone et de β -sinensal ont également été signalées.

Les agrumes renferment également des composés alcooliques qui contribuent à leur arôme. Les alcools principaux présents dans l'huile d'orange et l'essence sont le linalol et l'octanol, tandis que le 4-terpinéol et l' α -terpinéol sont également présents en quantités importantes. D'autres alcools tels que le méthanol, l'éthanol, le n-propanol, l'isobutanol, le n-butanol, l'iso-pentanol, le n-pentanol, le n-hexanol, le 3-hexénol, le n-heptanol, le méthylhepténol, le 2-nonanol, le n-nonanol, le n-décanol, le citronellol, le nérol, le géraniol, le carvéol, l'undécanol et le dodécanol sont présents à l'état de traces (Attaway et al., 1962 ; Hunter et Moshonas, 1965). Les mêmes alcools sont présents dans les huiles de citron, de pamplemousse et de mandarine, bien que leurs proportions diffèrent (Hunter et Moshonas, 1966). Les acides organiques volatils qui se trouvent dans l'essence de jus d'orange sont l'acide acétique, n-propionique, n-butyrique, caproïque et caprique (Attaway et al., 1964). On peut, également, trouver des traces d'acides volatils tels que l'acide isovalérique, valérique, isocaproïque et caprylique.

Tableau 1: Taux des constituants les plus importants de bio-arômes issues des peaux de fruits d'Agrumes

(Source : Shaw 1979 ; Kefford et Chandler, 1970 ; Attaway et al., 1968 ; Norman et al., 1967 ; Hunter et Brogden, 1965 ; Ikeda et Spitler, 1964 ; Kesterson et Hendrickson, 1964, 1963, 1962 ; Stanley, 1962 ; Yokoyama et al., 1961)

Constituants	Orange	Mandarine Satsuma	Tangerine Dancy	Pamplemousse	Citron	Lime (pressée à froid)	Lime (distillée)
Monoterpènes (Total)	89 – 91 (% de l'huile)	98 (% de l'huile)	- (% de l'huile)	88 (% de l'huile)	81 – 85 (% de l'huile)	69 (% de l'huile)	77 (% de l'huile)
d-limonène	83 – 90	65 – 68	87 – 93	88 – 90	72 – 80	64	60
Hydrocarbures							
α-pinène	0,5	0,8	1,0	1,6	2,0	1,2	0,8
β-pinène	1,0	-	0,4	-	7 – 13	1,2	0,8
Myrcène	2,0	2,0	1,2	1,9	2,0	-	0,8
γ-terpinène	0,1	-	3,4	0,5	10,0	22,0	0,6
p-cymène	-	2,8	0,4	0,4	-	1,9	12,0
Aldehydes	1,8 (% de l'huile)	-	-	1,2 – 1,8 (% de l'huile)	-	-	-
Heptanal	3,0 % des aldéhydes	-	-	4,0 % des aldéhydes	1,0 % des aldéhydes	-	-
Octanal	39,0	-	4,0	16 – 35	4,0	-	0,3
Nonanal	5,0	-	-	7,0	6,0	-	-
Décanal	42,0	5,0	-	43 – 53	3,0	-	0,09
Citral	0,05 – 0,2 (% de l'huile)	-	-	0,06 (% de l'huile)	1,9 – 2,6 (% de l'huile)	3,1 – 5,3 (% de l'huile)	0,3 (% de l'huile)
Alcools	0,9 (% de l'huile)	-	-	0,3 – 1,3 (% de l'huile)	-	-	-
Octanol	2,8	-	-	-	1	-	-
Décanol	-	-	-	-	-	-	-
Linalol	5,3 (% de l'huile)	2	-	0 – 3 (% fraction déterpénées)	-	-	-
Esters	2,9 (% de l'huile)	-	-	3 – 4 (% de l'huile)	-	-	-

1.3- Techniques d'extraction

L'objectif principal de ces techniques est d'extraire des composés bioactifs, comme les huiles essentielles, les flavonoïdes et les caroténoïdes, des écorces d'agrumes, qui peuvent ensuite être utilisées dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Kanatt et al., 2019).

1.3.1- Techniques Conventionnelles

1.3.1.1- Distillation

La distillation est l'une des principales techniques utilisées pour l'extraction des arômes. Ce processus implique des échanges de matière entre différentes phases, solide, liquide et la vapeur, ce qui influence la qualité et le rendement de la production des essences végétales. Trois procédés distincts exploitent le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau (Ouis, 2015).

1.3.1.1.1- L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode d'extraction la plus couramment utilisée. Elle implique l'immersion du matériau végétal, qu'il soit sec ou frais, dans une cuve remplie d'eau, qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs résultantes, qui sont hétérogènes, sont ensuite condensées à l'aide d'un système de réfrigération à circulation d'eau, permettant ainsi la séparation de l'arôme de l'hydrolat en raison de leur différence de densité (Chenni, 2016).

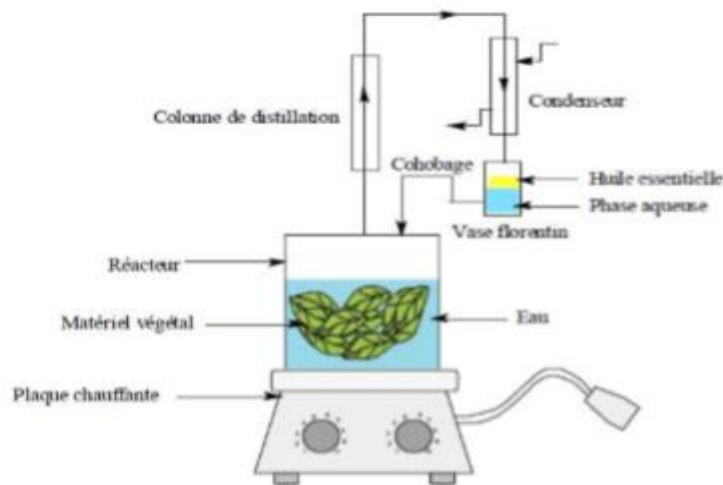


Figure 5: Schéma de montage de l'hydrodistillation (Chenni, 2016).

1.3.1.1.2- Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est la technique la plus récente de distillation dans laquelle il n'y a pas de contact direct entre la matière végétale et l'eau. Elle apporte une amélioration à la qualité de l'arôme en réduisant les altérations hydrolytiques. Son procédé consiste à produire un vapeur d'eau dans une chaudière séparée, puis l'injecter à la base de l'alambic. Ensuite elle remonte à l'intérieur et traverse la plante en dissolvant et évaporant les molécules aromatiques. Après, la vapeur hétérogène passe par un système de refroidissement qui entraîne sa condensation en liquide saturé d'eau sur lequel flotte l'arôme (Deschepper, 2017).

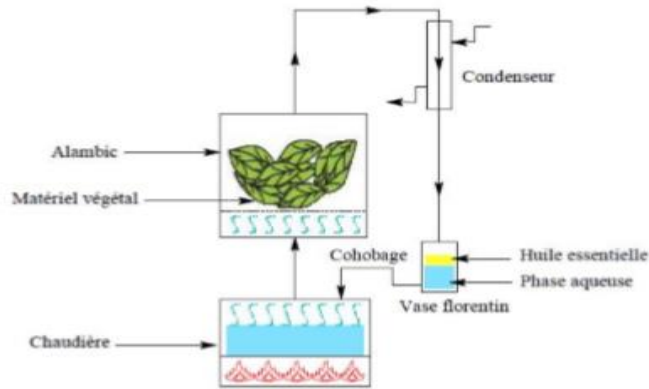


Figure 6 : Schéma de montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (Chenni, 2016).

1.2.1.1.3- Hydro-diffusion

L'hydro-diffusion (figure 7) est une technique relativement récente. C'est une variante de l'entraînement à la vapeur d'eau. Son principe consiste à pulser du haut vers le bas de la vapeur d'eau à pression réduite de sorte qu'il traverse la masse végétale. La condensation du mélange de vapeur contenant l'arôme se produit sous la grille retenant la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils (Abdelli, 2017 ; Hesses, 2018).

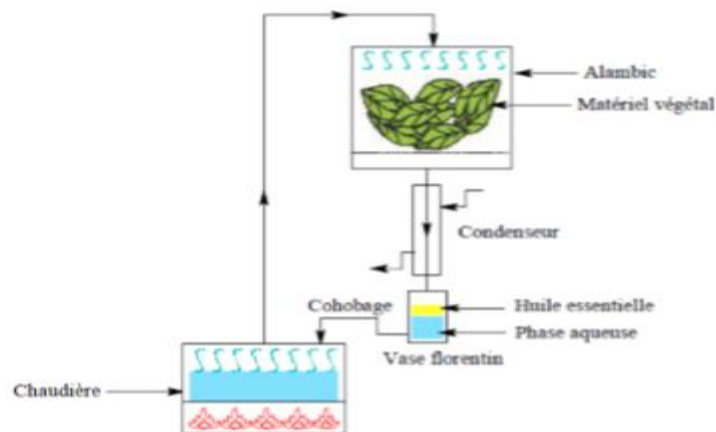


Figure 7: Schéma de dispositif de l'hydro-diffusion (Chenni, 2016).

1.3.2- Techniques d'extraction développées

1.3.2.1- Technique d'extraction par fluide supercritique (SFE)

La technique d'extraction par fluide supercritique (SFE) est innovante car elle utilise un solvant dans des conditions de température et de pression où il se situe entre les phases liquides et gazeuses, présentant ainsi des propriétés physicochimiques uniques. Le dioxyde de carbone (CO₂) est le solvant le plus couramment utilisé pour cette méthode, car il est facilement disponible à des pressions et des températures critiques relativement basses. En outre, il est non toxique, ininflammable, inerte et disponible en haute pureté à faible coût (Bonnafous, 2013 ; Boukhatem et al., 2019).

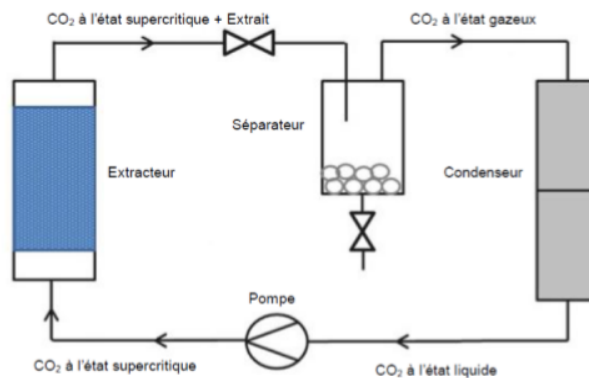


Figure 8: Schéma du procédé de l'extraction par CO₂ supercritique (Negahban et al., 2012).

1.3.2.3- Extraction assistée par micro-ondes (MAE)

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) est une méthode d'extraction rapide et efficace qui utilise l'énergie micro-ondes pour chauffer le solvant et faciliter le processus d'extraction. Le processus consiste à mélanger la pelure d'agrumes avec le solvant dans un réacteur à micro-ondes, qui est ensuite chauffé à l'aide d'énergie micro-ondes. L'extrait est, ensuite, séparé du solvant par distillation ou évaporation. Il a été démontré que le MAE est très efficace pour l'extraction des huiles essentielles et des flavonoïdes des écorces d'agrumes. Il présente également plusieurs avantages, comme un temps d'extraction plus court, un rendement d'extraction plus élevé et une consommation réduite de solvants (Vinatoru et al., 2017).

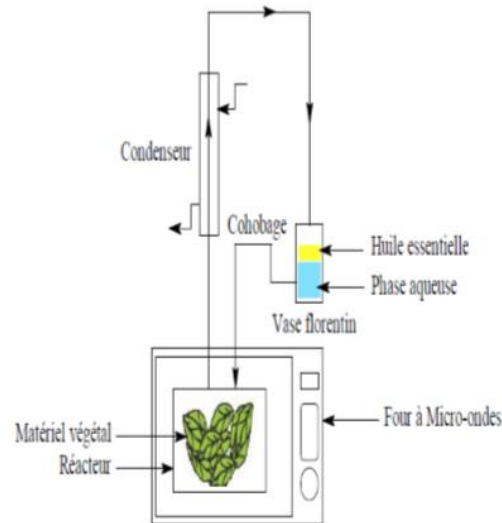


Figure 9: Schéma de montage de l'extraction sans solvant assisté par micro-ondes (Chenni, 2016).

1.3.2.4- Extraction assistée par ultrasons (EAU)

L'extraction assistée par ultrasons (EAU) est une méthode d'extraction non thermique qui utilise des ondes sonores à haute fréquence pour perturber les parois cellulaires des écorces d'agrumes et faciliter le processus d'extraction. Le procédé consiste à mélanger la peau d'agrumes avec le solvant dans un bain ultrasonique, qui est ensuite soumis à des ondes sonores à haute fréquence. L'extrait est ensuite séparé du solvant par distillation ou évaporation. Il a été démontré que les ÉAU sont très efficaces pour l'extraction des huiles essentielles, des flavonoïdes et des caroténoïdes des écorces d'agrumes. Il présente également plusieurs avantages, comme un rendement d'extraction plus élevé, un temps d'extraction plus court et une consommation réduite de solvants (Tzortzakis et Economakis, 2017).

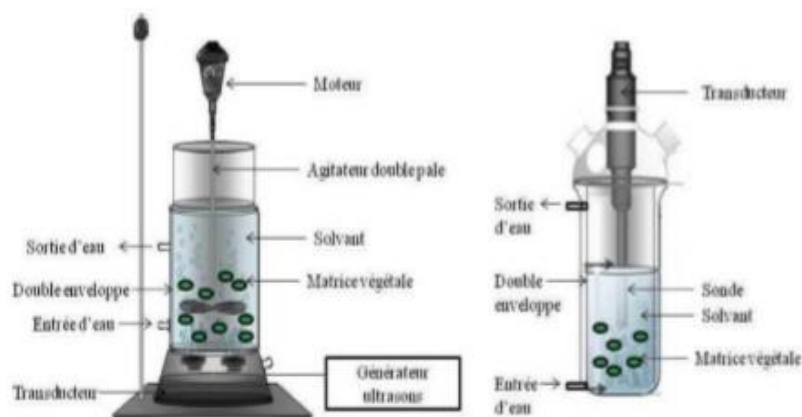


Figure 10: Extraction aux ultrasons bac et sonde (Mnyayer, 2014).

1.4- Caractéristiques des bio-arômes (BAs)

1.4.1-Propriétés physico-chimiques et organoleptiques

1.4.1.1- Caractérisation physique

La densité ou densité relative d'une huile essentielle est définie comme le rapport de sa masse volumique à la masse volumique de l'eau distillée à une température de 20°C. Il est courant d'observer que la densité des huiles essentielles est généralement inférieure à 1, ce qui correspond à une densité inférieure à celle de l'eau (Deschepper, 2017).

1.4.1.2- Les propriétés organoleptiques

Les propriétés organoleptiques des bio-arômes d'agrumes sont évaluées par les sens afin d'appréhender leur apparence, leur couleur et leur odeur. Pour étudier ces caractéristiques organoleptiques, une évaluation sensorielle est réalisée en se basant sur des critères tels que la couleur, l'odeur et l'apparence. Ces analyses ont été réalisées par un groupe de référence composé de 20 étudiants et 10 professeurs du laboratoire LaMyBAM et du laboratoire Obtention des substances thérapeutiques.

1.4.2-Activités biologiques

1.4.2.1-Activités antibactérienne

Les bio-arômes et leurs composants actifs présentent de nombreuses activités biologiques spécifiques, notamment une activité antibactérienne. Ils ont démontré plusieurs capacités thérapeutiques et médicinales, telles que leur potentiel antimicrobien.

Les antibiotiques ont une capacité limitée à combattre les micro-organismes nuisibles en raison de leur potentiel à causer le cancer, leur toxicité aiguë, leur impact environnemental et la résistance accrue des bactéries à ces médicaments. Par conséquent, la recherche se tourne vers la découverte de nouvelles molécules présentant un effet antibactérien efficace et étendu. Les bio-arômes naturels extraits des écorces d'agrumes sont un exemple de biomolécules prometteuses pour lutter contre diverses maladies infectieuses (Bertella, 2019).

Les mécanismes précis par lesquels les bio-arômes exercent leur activité antibactérienne ne sont pas encore pleinement compris en raison de la complexité de leur composition chimique. Il est donc difficile de déterminer avec précision leur mode d'action. Des études antérieures

suggèrent que l'activité antibactérienne des huiles essentielles ne peut être attribuée à un mécanisme unique, mais plutôt à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Dorman et Deans, 2000).

La détermination de l'effet bactéricide et bactériostatique d'une huile essentielle est réalisée en effectuant un repiquage des zones d'inhibition formées où aucune croissance bactérienne n'est visible à l'œil nu sur un milieu de culture. Les composés qui inhibent la croissance bactérienne sont qualifiés de "bactériostatiques", tandis que ceux qui tuent les bactéries sont appelés "bactéricides".

1.4.2.2-Activité antifongique

L'activité antifongique se réfère à la capacité d'une substance à combattre les infections fongiques en entravant leur croissance ou en les éliminant. Les antifongiques sont utilisés pour traiter diverses infections fongiques, notamment celles qui affectent la peau, les ongles, le système respiratoire et les organes internes (Bertella, 2019).

Les bio-arômes ont démontré des effets antifongiques prometteurs, notamment ceux extraits des écorces d'agrumes qui sont riches en composés phénoliques. Les bio-arômes peuvent agir en perturbant la membrane cellulaire des champignons, en inhibant leur croissance ou leur reproduction, ou en perturbant leur métabolisme (Thomaz, 2008).

1.4.2.3-Activités antioxydants :

Les antioxydants sont des composés qui peuvent agir en tant qu'agents de terminaison pour rediriger ou piéger les radicaux libres. Certains antioxydants sont capables d'interrompre la réaction en chaîne de la peroxydation en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant qu'il ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. D'autres antioxydants sont capables d'absorber l'excès d'énergie de l'oxygène singulier et de le convertir en chaleur. En tant qu'agents préventifs, les antioxydants peuvent bloquer le processus d'initiation en se complexant avec des catalyseurs (Lobo et *al.*, 2010).

1.5- La pectine

La pectine est une substance d'origine végétale qui appartient à la famille des polysaccharides complexes. Elle se trouve principalement dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des plantes supérieures (Paquot et *al.*, 2010). La pectine, également connue sous le code E440, est principalement composée d'une chaîne d'acides D-galacturoniques liés par des liaisons α (1-

4). Ces acides peuvent être estérifiés avec du méthanol ou amidés. Les degrés d'estérification et d'amidation font référence au nombre de fonctions carboxyliques méthylées ou amidées pour chaque motif d'acide galacturonique. La pectine est extraite à partir des déchets issus de la fabrication de jus d'agrumes et de pommes (Gharsallaoui, 2008).

Les propriétés exceptionnelles sur le plan de la santé et les multiples fonctions de la pectine justifient son utilisation croissante dans divers secteurs tels que, l'alimentation, la cosmétique, la médecine et l'industrie pharmaceutique (Efsa, 2010). Au cours des deux dernières décennies, la demande mondiale d'aliments a augmenté de manière constante, entraînant une croissance du marché des hydrocolloïdes, dont la pectine est l'un des plus recherchés et conviviaux (Willats et *al.*, 2006). Sur le plan médical, la pectine est utilisée dans des préparations cicatrisantes et des adhésifs médicaux spéciaux, tels que les dispositifs de colostomie (Sriamornsak, 2011). En tant que composant naturel de l'alimentation humaine, la pectine présente de nombreux avantages, notamment sa capacité à se lier au cholestérol dans le tractus gastro-intestinal, ce qui réduit les niveaux de cholestérol, et à ralentir l'absorption du glucose en capturant les glucides (Seisun, 2012). De nombreux médicaments sont encapsulés dans des films de pectine pour protéger la muqueuse gastrique et permettre une libération contrôlée des principes actifs dans la circulation sanguine (Wicker, 2014). Dans l'industrie cosmétique et des produits de soins personnels, la pectine est utilisée non seulement comme agent texturant pour les onguents, les huiles et les crèmes, mais aussi comme épaississant et stabilisant pour les shampooings, les lotions et les toniques capillaires (Sriamornsak, 2011). De plus, la pectine est désormais reconnue comme un agent anti-âge efficace pour la peau. Le marché mondial de la pectine aurait atteint 850 millions de dollars (Ciriminna et *al.*, 2016).

Matériel et méthodes

2- Matériel et méthodes

Le présent travail s'est concentré sur la valorisation des écorces d'agrumes pour la production de bio-arômes et de pectine. Les échantillons de pelures d'orange et de citrons utilisés dans ce travail ont été collectés de différents lieux (restaurants universitaires et différents Fast-foods). La partie expérimentale a été réalisée dans différents laboratoires de l'université des frères Mentouri, Constantine. Pour ce faire, plusieurs procédures ont été appliquées :

Extraction de bio-arômes par hydrodistillation et extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME) à partir de pelures d'agrumes. Cette opération a été effectuée au sein du laboratoire 'Obtention des Substances Thérapeutiques', département de chimie, université des frères Mentouri, Constantine 1.

Extraction de bio-arômes et de pectine par micro-onde assistée par vapeur. Cette étape a été réalisée au laboratoire de Mycologie, de Biotechnologies et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM), département de Biologie Appliquée, université des frères Mentouri, Constantine 1.

Étude de l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante des produits obtenus, réalisées dans le même laboratoire (LaMyBAM).

2.1- Matériel végétal (Matière première) :

Le matériel végétal utilisé est constitué d'écorces d'oranges (*Citrus sinensis*) et de citrons (*Citrus limon*). Les bio-arômes et la pectine étudiés ont été extraits des zestes conservés à température ambiante.

Selon Guignard (2001), la position systématique de l'orange douce (figure 11) est la suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Ordre : Rurales

Sous-classe : Rosidées

Famille : Rutaceae

Genres : Poncirus, Fortunella et Citrus

Espèce : *Citrus sinensis*.

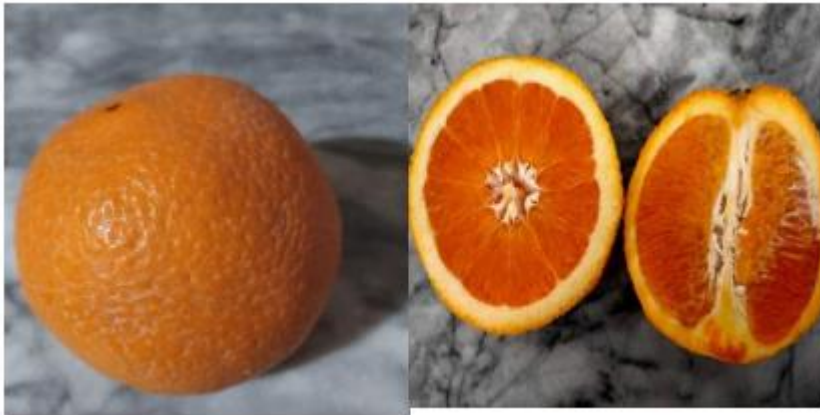


Figure 11: fruits d'agrumes (oranges).

La position systématique du citron (figure 12) est la suivante :

Règne : Végétal.

Embranchement : spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Ordre : Rurales

Sous-classe : Rosidés

Famille : Rutacées

Genre : Agrumes

Espèce : *Citrus limon*

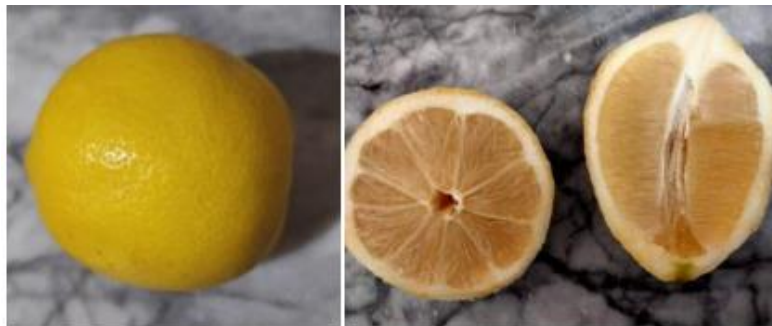


Figure 12: fruits d'agrumes (citrons).

2.2- Appareil d'extraction proposé

L'appareil proposé dans ce travail est baptisé VapoilWaves. Le but recherché à travers cette conception est la proposition d'une technologie polyvalente et adaptable pour l'extraction de bio-arômes avec un coût moindre et un rendement élevé en comparaison avec le procédé conventionnel. Le procédé repose sur la combinaison entre les microondes pour la libération de bio-arômes d'origine végétales, et entraînement de ces de bio-arômes par la vapeur, préalablement, produite par chauffage. Le rendement de ce dispositif, démontré expérimentalement, est nettement supérieur à celui de la méthode classique.

2.3- Méthodologie

2.3.1- Méthodes d'extraction

Les déchets d'agrumes collectés ont été triés et soigneusement lavés pour éliminer les contaminants superficiels, les résidus de terre et les débris non désirés.

Les composés aromatiques présents dans les agrumes sont extraits en utilisant trois méthodes différentes. La première méthode est l'hydrodistillation traditionnelle (HD), où les composés volatils sont extraits en utilisant de la vapeur d'eau. La deuxième méthode est la méthode d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME), où les micro-ondes sont utilisées pour chauffer l'eau contenant l'échantillon ce qui facilite l'extraction des composés aromatiques sans l'utilisation de solvants. Enfin, la troisième méthode est la méthode d'extraction qui repose sur l'utilisation de microondes appelée VapoilWaves, qui permet d'extraire les bio-arômes et la pectine d'agrumes, sans nécessiter l'utilisation de solvants ni le bain d'eau.

2.3.1.1-Méthode traditionnelle : Hydrodistillation

Dans cette méthode, les résidus sont introduits dans un extracteur de type Clevenger, qui est un équipement de distillation. Une quantité précise d'eau est ajoutée à l'extracteur en fonction de la quantité de déchets utilisée. L'appareil est ensuite chauffé pendant environ 3 à 4 heures, ce qui permet aux vapeurs d'eau chargées de bio-arômes de s'élever et de se diriger vers le système de condensation. Le mélange d'eau et de BAs qui se forme est recueilli dans un récipient approprié.

2.3.1.2- Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME)

Cette méthode fait usage d'un four à micro-ondes spécifique, le MILESTONE EOS-GR, équipé d'un réacteur fonctionnant à une fréquence de 2 450 MHz. Les déchets d'agrumes sont préparés en utilisant la même quantité de poids que pour l'autre méthode. Les déchets sont placés dans un récipient approprié avec une quantité d'eau adéquate, la préparation est exposée à des micro-ondes dans des conditions constantes de température et de puissance, afin de garantir la comparabilité avec les autres méthodes. Les micro-ondes génèrent de la chaleur à l'intérieur des déchets, facilitant ainsi l'extraction des bio-arômes sans avoir recours à des solvants. Les composés aromatiques volatils sont apportés par la vapeur d'eau et seront séparés après condensation.

2.3.1.3- Extraction par la méthode VapoilWaves

Les déchets d'agrumes sont soumis à un traitement spécifique par micro-ondes en suivant un protocole développé spécialement pour cette méthode combinée. Ce protocole permet une extraction simultanée des bio-arômes et de la pectine, sans avoir recours à des solvants ni au bain d'eau pour contenir l'échantillon. Les conditions de température et de puissance des micro-ondes sont optimisées afin de maximiser l'extraction des composés recherchés. Ces composés sont entraînés sous gravité par la vapeur produite à l'extérieur de l'appareil générant les micro-ondes. Cela assure une efficacité élevée dans le processus d'extraction, permettant d'obtenir des bio-arômes et de la pectine de haute qualité à partir des déchets d'agrumes. Les bio-arômes et la pectine sont conservés au réfrigérateur, à l'abri de la lumière, à une température de 4°C.

2.3.2- Détermination du rendement d'extraction de bio-arômes

Le rendement d'extraction de bio-arômes de zestes de *Citrus limon* et *Citrus sinensis* a été déterminé afin d'étudier la cinétique d'extraction. Des quantités de BAs ont été récupérées et utilisées pour calculer le rendement à chaque extraction. Conformément à la norme AFNOR (1986), le rendement des bio-arômes (R%) est défini comme le rapport entre la masse des bio-arômes obtenus après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est calculé selon la formule suivante :

$$R\% = (M' / M) \times 100$$

Où

R% : est le rendement des bio-arômes en pourcentage ;

M' : est la masse des bio-arômes obtenues en g ;

M : est la masse de zeste d'agrume en g.

2.3.3-Détermination des propriétés physiques et organoleptiques

2.3.3.1-Propriétés physiques par la mesure de la densité relative

Pour déterminer la densité relative de bio-arômes extraits des zestes de citrons et d'oranges, la méthode suivante a été appliquée : avec une balance de précision, 1 ml d'eau distillée, de bio-arôme d'orange et de citron ont été pesés séparément et la masse de tout un chacun a été obtenue. La densité relative (d) a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$d = m(BA) / m(eau)$$

Où :

d représente la densité relative ;

$m(Ba)$ représente la masse de bio-arômes ;

$m(eau)$ représente la masse de l'eau distillée.

Pour rappel, la densité relative est une grandeur adimensionnelle qui représente le rapport de la densité de la substance à la densité de référence (dans ce cas, l'eau distillée). Elle fournit une indication sur la légèreté ou la lourdeur d'une substance par rapport à l'eau. Une densité relative inférieure à 1 indique que la substance est plus légère que l'eau, tandis qu'une densité relative supérieure à 1 indique qu'elle est plus lourde que l'eau.

2.3.3.2-Propriétés organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des bio-arômes ont été évaluées en utilisant des méthodes sensorielles basées sur les sens, l'apparence, la couleur et l'odeur.

2.3.4-Activité antimicrobienne

2.3.4.1- Activité antibactérienne

Les souches bactériennes utilisées dans ce test (tableau 2) ont été réactivées par ensemencement dans des boîtes de Pétri contenant des milieux sélectifs appropriés.

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures afin de permettre la croissance des bactéries.

Tableau 2: Souches microbiennes testée

Souche	Famille	Gram	Infection
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	-	Diarrhées dysentériques Gastro-entérites
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	-	Crampes abdominales Troubles digestifs
<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Micrococcaceae</i>	+	Infections urinaires L'ostéomyélite et L'arthrite
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillaceae</i>	+	Gastro-entérites
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	-	Gastro-entérites ; Fièvre



Figure 13: boîtes de Pétri contenant des milieux sélectifs.

2.3.4.1.1- Préparation des dilutions de bio-arômes

Pour la préparation des dilutions adéquates de bio-arôme, un millilitre (1 ml) de chaque bio-arôme a été dilué dans 1 ml de DMSO (50/50 v/v).

2.3.4.1.2- Préparation des suspensions bactériennes

Pour la préparation des bactéries test, il a été prélevé à partir d'une culture jeune, quelques colonies, à l'aide d'une anse de platine et déposées dans des tubes stériles contenant 9 ml d'eau physiologique, suivi d'une agitation vigoureuse jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.



Figure 14: obtention de suspensions bactériennes.

2.3.4.1.3- Ensemencement sur Mueller Hinton

Le test antibactérien a été réalisé milieu gélosé Mueller Hinton. Une fois solidifiée, une suspension bactérienne fraîchement préparée a été étalée, uniformément, à la surface de la gélose, en utilisant un écouvillon stérile. Les boîtes ont, ensuite, été laissées sécher pendant quelques minutes. Des disques de papier wattman (\varnothing 0.5mm) ont été imbibés de 40 μ l de la solution de bio-arômes préparée précédemment. Les disques ont été déposés de manière stérile sur la surface des boîtes préalablement ensemencées avec la suspension bactérienne. Les boîtes ainsi préparées ont été placées au réfrigérateur à une température de 4°C pendant 30 minutes pour permettre la diffusion des bio-arômes, ensuite, incubées à 37°C pendant 18 heures.

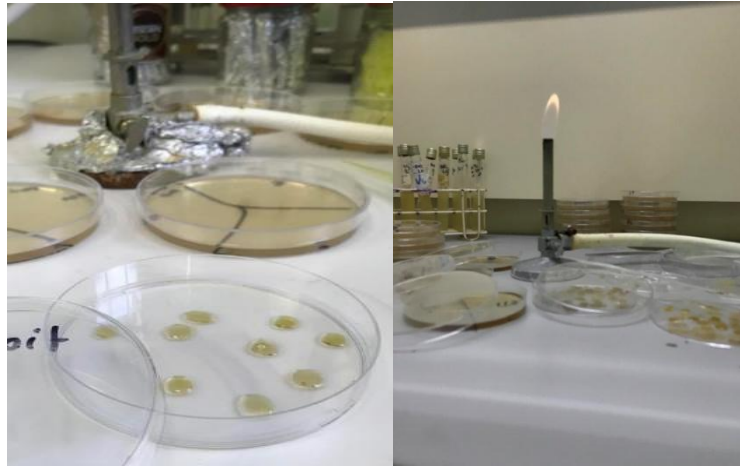


Figure 15: Préparation des disques.

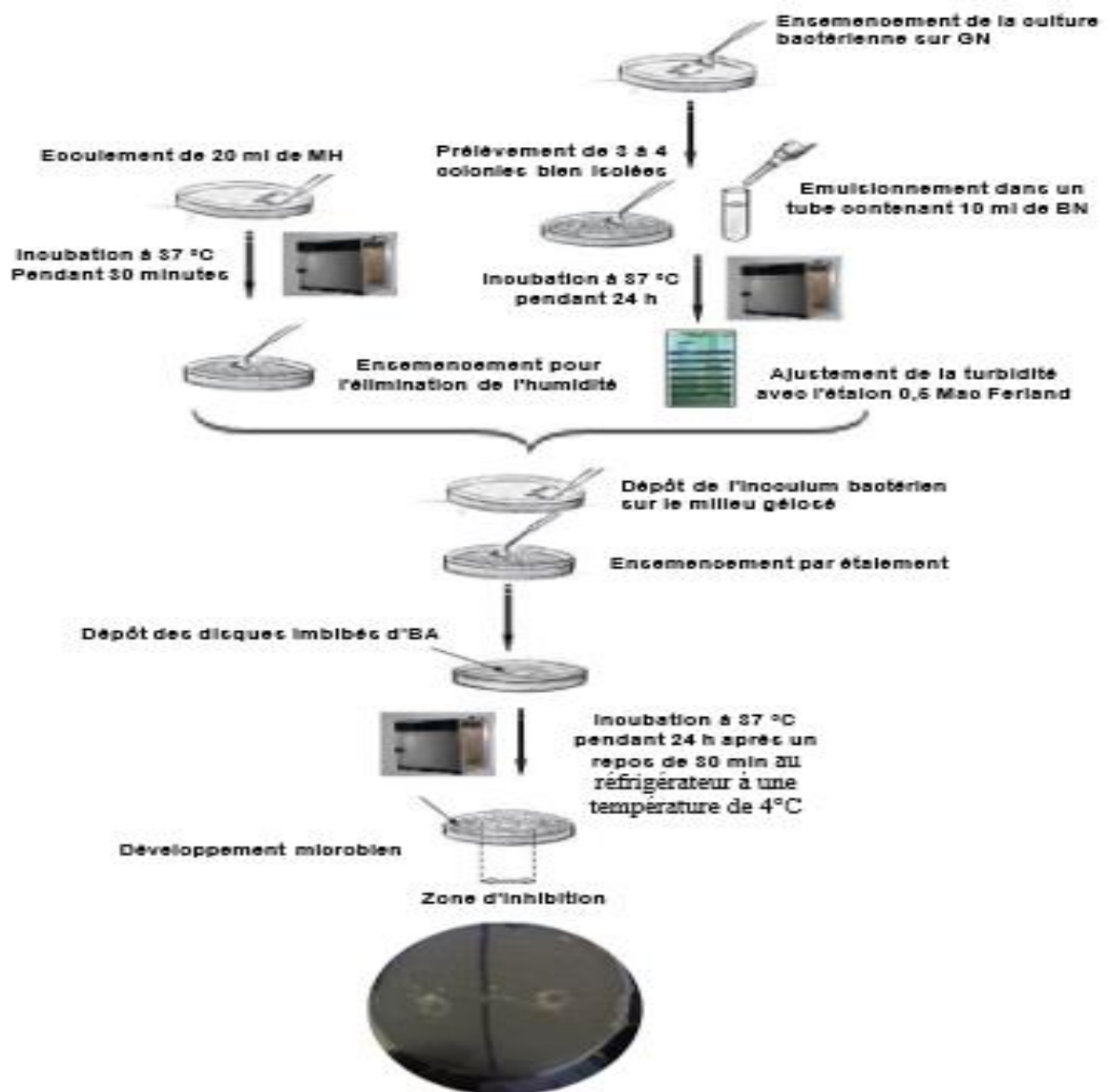


Figure 16 : Protocole de détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode des disques.

2.3.4.1.4-Activité antifongique

Pour ce faire, plusieurs souches fongiques ont été utilisées (tableau 3).

2.3.4.1.5-Préparation de la suspension fongique

Pour les levures, à partir d'une culture de levures âgée de 48 heures cultivée à 37°C sur milieu de Sabouraud (pH = 7), une suspension dense a été préparée en utilisant de l'eau physiologique stérile. En ajoutant 3 à 5 ml d'eau physiologique, la suspension a été agitée vigoureusement à l'aide d'un vortex. Une partie de cette suspension mère a été diluée de manière appropriée afin d'obtenir une densité optique mesurée à 623 nm, comprise entre 0,14 et 0,16, ce qui correspond à une concentration d'environ $X10^6$ levures/ml (Bastide et *al.*, 1986).

Pour les moisissures, des cultures jeunes ont été préparées sur milieu Sabouraud et l'incubation a été réalisée à 30°C, jusqu'à l'obtention d'une couleur caractéristique de la souche. Les suspensions sporales ont été obtenues par l'ajout de l'eau physiologique dans des ces boîtes, suivi par l'enlèvement de spores par anse de platine. La suspension est reçue dans des tubes, agitée vigoureusement.

Tableau 3 : Souches fongique testées

Souches	Famille	Infections
<i>Penicillium sp.</i>	<i>Trichomaceae</i>	Onychomycoses ou kératites
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichocomaceae</i>	Vaginal
<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>	Infections chroniques sévère
<i>Alternaria sp.</i>	<i>Pleosporaceae</i>	Plantes cultivées ou non
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Nectriaceae</i>	Flétrissement vasculaire



Figure 17: Préparation de la suspension fongique.

Les suspensions fongiques obtenues précédemment ont étéensemencées d'une manière uniforme sur des boîtes contenant du milieu Sabouraud. Des disques contenant l'arôme, préalablement, préparés (voir la rubrique précédente) ont été déposés de manière stérile sur la surface de la gélose. Les boîtes ainsi préparées ont été incubées à la température appropriée jusqu'à l'obtention d'une croissance apparente et distinctive.

2.3.4.1.6- Lecture des résultats

La présence d'une zone d'inhibition claire et mesurable est considérée comme une réaction positive. Les diamètres des zones d'inhibition des souches étudiées ont été mesurés et par conséquent, les souches ont été classées :

Non sensible (-) ou résistante : absence de zone.

Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm.

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.

Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm. (Ponce et *al.*, 2003)

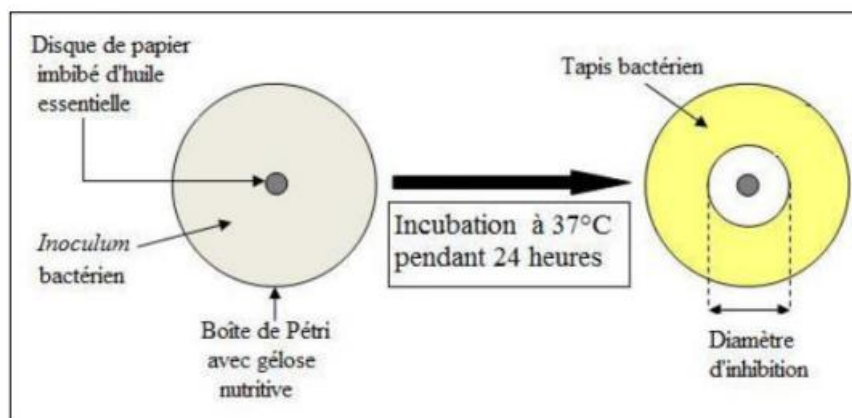


Figure 18: Principe de la méthode de la diffusion sur gélose.

2.3.5-Test antioxydant

Ce test repose sur le piégeage du radical hydroxyle (OH●). Cette technique est réalisée selon la méthode de Smirnoff et Cumbes (1989). Le principe est basé sur la production de OH● dans le milieu réactionnel à travers la réaction de Fenton, ensuite le radical OH● produit réagit avec le sodium salicylate pour produire le complexe hydroxyle salicylate.

Le volume finale du milieu réactionnel est de 3.0 ml, le milieu est constitué de 1.0 ml de FeSO₄ (1.5 mM), 0.7 ml de peroxyde d'hydrogène (6 mM), 0.3 ml de sodium salicylate (20 mM) et 1 ml des différentes concentrations de l'huile totale et la fraction neutre. Après une incubation à 37°C pendant 1h, l'absorbance du complexe hydroxyle salicylate est mesurée à 562 nm. Le pourcentage d'inhibition de OH● est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [1 - (A1 - A2) / A0] \times 100$$

A0 : l'absorbance du contrôle (sans extrait) ;

A1 : l'absorbance en présence d'extrait ;

A2 : l'absorbance sans sodium salicylate.

2.3.6- Détermination du rendement d'extraction de la pectine

Le rendement en pectine a été exprimé en pourcentage et calculé par l'équation suivante :

$$Y_p \% = (M_p / M_T) \times 100$$

où Y_p est le rendement en pectine ;

M_p est la masse de la pectine extraite en g ;

et M_T est la masse de zeste d'agrumes en g.

2.3.7- Détermination de la teneur en pectine

Les échantillons de pectine extraits d'oranges et de citrons ont été préparés selon un protocole d'extraction approprié. Une quantité de 0,2 ml de chaque échantillon a été transférée dans des tubes à essai individuels, en veillant à ce que les échantillons contiennent une quantité adéquate de pectine. Ensuite, une solution d'acide sulfurique (1,2 ml) a été ajoutée à chaque tube à essai contenant les échantillons, et un mélange doux a été réalisé pour assurer une homogénéité. Les tubes ont été placés dans un récipient contenant de la glace pilée pendant quelques minutes pour

maintenir une température basse. Afin de favoriser la réaction entre l'acide galacturonique et le réactif m-hydroxydiphényl, les tubes ont été régulièrement agités.

Ensuite, les tubes ont été placés dans un bain-marie maintenu à une température de 100°C pendant 5 minutes pour permettre la réaction. Après le chauffage, les tubes ont été rapidement refroidis dans un bain d'eau glacée pour arrêter la réaction. Une quantité de 20 µl du réactif m-hydroxydiphényl a été ajoutée à chaque tube contenant les échantillons, en s'assurant de bien agiter les tubes pour obtenir un mélange homogène. Les tubes ont été laissés au repos pendant environ 5 minutes pour permettre la réalisation de la réaction. L'observation d'une couleur rose indique la présence d'acide galacturonique dans les échantillons.

Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

3.1-Extraction et rendement en bio-arômes

Les essais d'extraction réalisés par les trois méthodes d'extraction appliquées ont abouti à des rendements différents et ce, suivant la nature de l'échantillon et la méthode appliquée (tableau 4). Ces résultats révèlent que les écorces d'oranges et de citrons sont riches en Bio-arômes d'une part, et facilement extractibles d'autre part (Lagha-Benamrouche et *al.*, 2018).

Tableau 4 : Rendements en bio-arômes des agrumes explorés

Essai	Agrume	Citron	Orange
Hydrodistillation		0.71%	0.83%
SFME		0.39%	0.59%
VapoilWaves		2.1%	2.87%

Il apparaît, en outre, des résultats que la méthode d'extraction proposée, pour la première fois, dans ce travail en l'occurrence, **VapoilWaves**, qui combine entre les microondes et la vapeur par gravité, a réalisé le meilleur rendement en comparaison avec les méthodes conventionnelles déjà référencées ; l'hydrodistillation et l'extraction assistée par micro-ondes combinée à l'hydrodistillation (**SFME**). Cette amélioration d'extraction est estimée à 4,83 pour l'orange et à 5,38 pour le citron.

Ces résultats intéressants laissent conclure que la méthode d'extraction proposée ici est concurrentielle sur le plan rendement et coût. Et son extrapolation vers la production industrielle ne peut être que rapporteuse.

3.2-Caractéristiques physiques et organoleptiques des bio-arômes :

3.2.1- Caractéristiques physiques :

Les caractéristiques physiques de bio-arômes d'orange et de citron, notamment la densité, est été évaluées conformément aux méthodes de référence de l'AFNOR et de la Pharmacopée européenne. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 4:Indices de la densité de bio-arômes d'agrumes

	Bio-arôme d'orange	Bio-arôme du citron
Densité	0.79	0.81

L'analyse de ces résultats révèle que les propriétés physiques (densité) des bio-arômes obtenus à partir de citrons et d'oranges par la méthode **VapoilWaves** varient en fonction de l'agrumes utilisé. En effet, les densités relatives des arômes de l'orange et citron sont estimées à 0,79 et à 0,81 respectivement. Ces valeurs respectent les critères de qualité fixés par les organismes internationaux, tels que l'AFNOR qui préconise à ces produits une densité inférieure à 0,925. Par conséquent, les propriétés physiques des bio-arômes obtenus par la méthode **VapoilWaves** respectent les normes de qualité requise.

2.2-Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des bio-arômes d'agrumes obtenus par **VapoilWaves** sont évaluées selon différentes normes, notamment celles établies par AFNOR (2000). Les résultats de ces évaluations sont présentés dans le tableau 6 et figure 19 :

Tableau 5 : Caractéristiques organoleptiques des bio-arômes d'agrumes explorés

Bio-arômes	Aspect	Couleur	Odeur
Bio-arôme d'orange	Liquide	Jaune clair	Odeur caractéristique d'orange fraîche, fruitée et acidulée
Bio-arôme de citron	Liquide	Jaune plus clair	Odeur caractéristique du citron, fruitée et acidulée



Figure 19 : Bio-arômes d'orange et de citron.

Les résultats des évaluations des caractéristiques organoleptiques des bio-arômes obtenus par **VapoilWaves** sont conformes aux normes établies par l'AFNOR (2000), en particulier sur leur aspect fraîcheur et sont par conséquent de qualité établie, ce qui est un indicateur positif pour leur utilisation dans diverses applications industrielles, notamment, pharmaceutiques.

3.3-test antimicrobienne

3.3.1- Test antibactérien

Lorsque l'activité antibactérienne est présente, elle se manifeste par la formation d'un halo d'inhibition autour des disques imbibés en bio-arômes. Les résultats montrés dans le tableau 7 résumant l'activité antibactérienne des bio-arômes obtenus :

Tableau 6: Résultats de l'activité antibactérienne des bio-arômes obtenus

Bio-arômes	Citron	Orange
Souches		
<i>Escherichia coli</i>	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	++
<i>Bacillus subtilis</i>	++	++
<i>Salmonella typhimurium</i>	+	++

Ces résultats révèlent que les bio-arômes, soient ceux obtenus des oranges soient ceux obtenus des citrons, développent des activités antibactériennes sur toutes les bactéries test, Gram + et Gram – à des degrés différents et la meilleure activité est obtenue par les bio-arômes d'oranges sur la Bactérie *Bacillus subtilis*. Globalement, l'effet antibactérien est constaté chez tous les bio-arômes, ce qui permet de conclure que ce résultat procure aux produits testés une valeur sanitaire supplémentaire. Ces résultats corroborent ceux obtenus par d'autres études, qui ont, également, mis en évidence les propriétés antibactériennes des extraits d'agrumes, notamment les espèces *Citrus sinensis* et *Citrus limon*, sur plusieurs bactéries notamment *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium* (Bertella, 2019). Par ailleurs, dans une étude menée par Ze-Hua Li et al. (2019) où ils ont évalué l'activité antibactérienne de BA de *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* (un agrume connu sous le nom de "finger citron") contre des bactéries d'origine alimentaire dont *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*, les bio-arômes de cet agrume a montré une activité antibactérienne modérée contre ces bactéries, avec un effet bactéricide plus prononcé sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. L'étude a également examiné les mécanismes d'action antibactérienne, montrant que les bio-arômes induisent des changements morphologiques et endommageant la membrane cellulaire des bactéries, entraînant leur mort. Une autre étude menée par Francesca Mancianti (2019) a évalué l'activité antibactérienne de bio-arômes de finger citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*) contre des bactéries d'origine alimentaire, dont *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*, où il a été révélé une activité antibactérienne modérée de BA de finger citron contre ces bactéries, avec un effet bactéricide plus remarqué sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Les mécanismes d'action antibactérienne comprenaient des changements morphologiques des bactéries, une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire et une lyse de la paroi cellulaire, conduisant à la mort des bactéries (Li et al., 2019). Dans une autre étude portant sur bio-arôme de *Citrus limon* (citron) a révélé qu'elle possède une activité antimicrobienne. Cette BA a montré une activité inhibitrice contre *Listeria monocytogenes*, une bactérie pathogène, dans de la viande de bœuf hachée (Ben Hsouna et al., 2017). Ces études mettent en évidence le potentiel de BAs d'agrumes, telles que *Citrus sinensis* et *Citrus limon*.

3.3.2-Activité antifongique

Les résultats obtenus (tableau 8) ont démontré que toutes ces souches fongiques étaient sensibles aux bio-arômes étudiés. En particulier, *Candida albicans* qui a montré une sensibilité plus prononcée vis-à-vis de ces produits. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par HIMED et al (2016) qui a évalué l'effet des huiles essentielles du genre *Citrus* sur des souches fongiques, ces résultats ont montré des propriétés antifongiques importantes. Par ailleurs, Nidhi et al (2020) ont confirmé l'efficacité de bio-arôme de *Citrus sinensis* contre *Candida albicans*. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que BA extrait de *Citrus* présente un potentiel prometteur en tant qu'agent antifongique. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour approfondir notre compréhension des mécanismes d'action spécifiques de ce BA et pour évaluer son potentiel d'application dans le traitement des infections fongiques. En conclusion, ces effets peuvent permettre de suggérer l'utilisation de ces produits comme compléments alimentaires.

Tableau 7: Résultats de l'activité antifongiques des bio-arômes

Bio-arômes	Citron	Orange
Souche		
<i>Penicillium sp.</i>	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	+	-
<i>Candida albicans</i>	++	++
<i>Alternaria sp.</i>	+	+
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-

3.4-Test antioxydant

La capacité antioxydante, mesurée par le potentiel à piéger le radical $\text{OH}\bullet$, a été évaluée en fonction de la concentration des extraits de bio-arômes. Le pourcentage d'inhibition du radical $\text{OH}\bullet$ a été déterminé pour chaque bio-arôme, et les résultats obtenus sont illustrés par la Figure 19. Les valeurs des IC_{50} , qui représentent la concentration nécessaire pour inhiber de manière significative 50% du radical $\text{OH}\bullet$, sont présentées dans la figure 20.

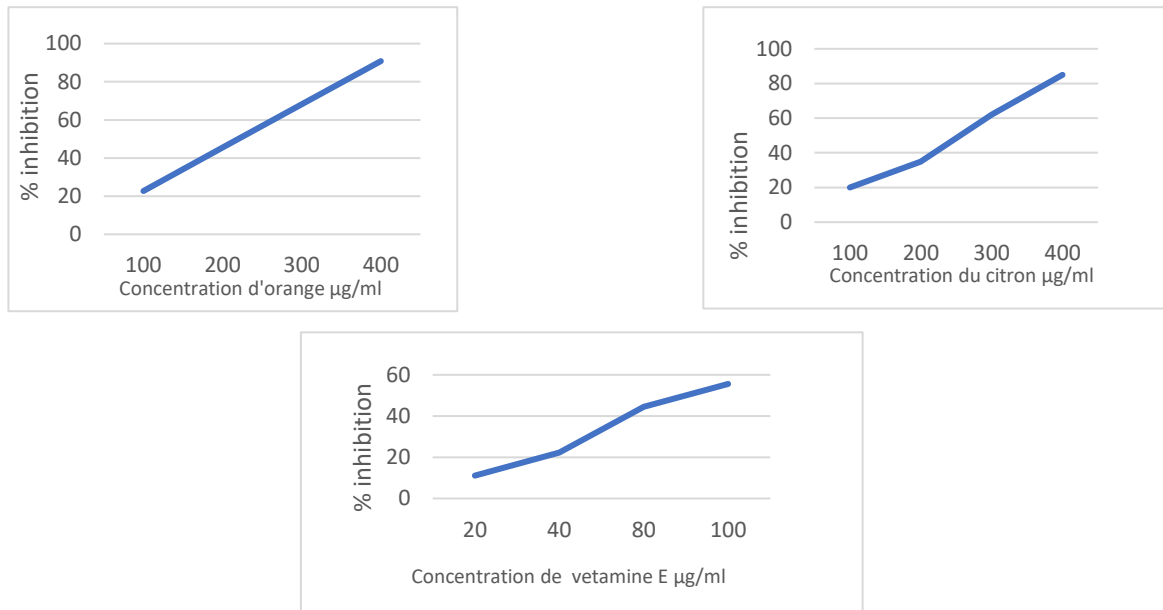


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du radical $\text{OH}\bullet$.

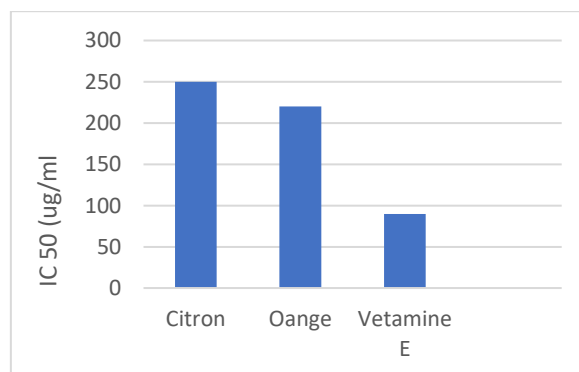


Figure 21: IC_{50} des différents échantillons.

Dans cette étude, il a été observé que la vitamine E ainsi que les bio-arômes de citron et d'orange ont montré une capacité à réduire les radicaux libres $\text{OH}\bullet$, avec des concentrations respectives de l'ordre de 89,92 µg/ml, 250 µg/ml et 220,26 µg/ml. Les bio-arômes de citron et d'orange ont montré une activité antioxydante inférieure à celle de la vitamine E, avec des valeurs d' IC_{50} de 250 µg/ml pour le citron et de 220,26 µg/ml pour l'orange. Cependant, lors de l'analyse

statistique en tenant compte des écarts-types, aucune différence significative n'a été observée entre l'activité antioxydante des bio-arômes et celle de la vitamine E. Cela suggère que les bio-arômes de citron et d'orange ont un potentiel similaire à celui de la vitamine E en termes d'activité antioxydante.



Figure 22: étude l'activité antioxydant.

3.5- Rendement en pectine

La pectine extraite d'oranges et de citrons ont été préparés conformément à un protocole d'extraction approprié, les résultats de rendements sont exprimés en pourcentage dans le tableau (9) :

Tableau 8: Rendement de la pectine

Agrume	Citron	Orange
Rendement	15.7%	19%

Les rendements d'extraction obtenus dans cette étude étaient de 19 % pour les écorces d'orange et de 15,7 % pour les écorces de citron. Ces valeurs représentent le pourcentage de pectine extraite par rapport à la teneur totale en pectine présente dans les pelures de fruits respectives. Le rendement plus élevé obtenu à partir des écorces d'orange suggère que le processus d'extraction est adéquat d'une part, la contenance en pectine dépend de la nature de l'échantillon.



Figure 23: Pectine extraite.

3.6- Détermination de la teneur en pectine

Lors de l'analyse colorimétrique, il a été observé que les échantillons d'orange ont produit une couleur rose foncé, indiquant la présence de pectine. En revanche, les échantillons de citron ont également montré une coloration rose, mais d'intensité moins prononcée. Ces observations suggèrent une teneur plus élevée en pectine dans les écorces d'orange par rapport aux écorces de citron.

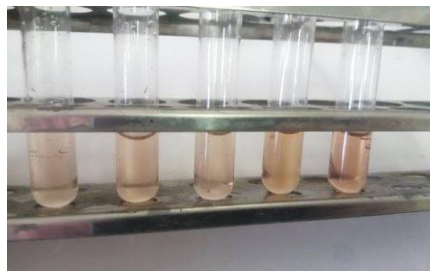


Figure 24: Analyse colorimétrique de la pectine.

Conclusion et perspectives

4-Conclusion

Les quantités de déchets d'agrumes produites augmentent avec la production et la consommation et le développement de l'industrie fruitière. Par conséquent, le cumul de grandes quantités de déchets constitue un problème de pollution majeur pour l'environnement. La valorisation de ces déchets forme une voie alternative de dépollution d'une part et génère une valeur ajoutée sur le plan économique.

La présente étude a pour objectif principal de valoriser les écorces d'agrumes (orange et citron), par la production de bio-arômes et de pectine.

Trois méthodes d'extraction de bio-arômes à partir des écorces d'agrumes ont été appliquées et comparées. Il a été conclu de cette expérience que, ces écorces sont très riches en bio-arôme et en pectine, et que leur extraction est très facile avec des rendements élevés, et que la méthode innovante proposée ici pour cet objectif, en l'occurrence, **VapoilWaves** s'avère, de loin, la plus efficace et la moins coûteuse, en comparaison avec les autres méthodes testées.

Le dispositif VapoilWaves, développé spécifiquement pour ce processus d'extraction, repose sur la combinaison des microondes et l'entraînement par vapeur, générée en dehors du système microondes, de bio-arômes vers le système de distillation sous l'effet gravitaire. Ce processus est une avancée significative dans le domaine de la valorisation des déchets d'agrumes. Les bio-arômes produits par cette méthode présentent des caractéristiques physiques et organoleptiques de haute qualité, répondant aux normes AFNOR et pharmacopée Européenne, ce qui ouvre la voie pour leur utilisation dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique. Ces Bio-arômes développent, en outre, une activité antimicrobienne et antioxydante.

Au terme de ce travail, une seule perspective peut être envisagée. Il s'agit de l'extrapolation du processus vers l'échelle industrielle.

Référence bibliographique

Références bibliographiques

A

Abdelli, M. (2017). Obtention et caractérisation des arômes de fruits par la technique d'hydrodistillation. Université de Reims Champagne-Ardenne.

AFNOR, (2000). Association française de normalisation. Normes françaises : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.

Amrouni, H. (2016). Impact de la sécheresse sur la production agricole dans la région de Batna. Université Hadj Lakhdar Batna 1. Disponible sur : http://dspace.ensa.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/291/1/amrouni_h.pdf

Alloun, A. (2018). Les techniques d'extraction des arômes. L'AROMATHERAPIE, 8-11.

Areekal, N. N., George, S., Peter, I. M., Thankachan, R., Haponiuk, J. T., & Gopi, S. (2023). Flavor Signatures of Beverages and Confectionaries. Natural Flavours, Fragrances, and Perfumes: Chemistry, Production, and Sensory Approach.

B

Bastide, A., De Méo, M., Andriantsoa, M., Laget, M., & Duménil, G. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. MIRCEN journal of applied microbiology and biotechnology, 2, 453-466.

Bellande, A. (2009). Impact socioéconomique de la dégradation des terres en Haïti et interventions pour la réhabilitation du milieu cultivé.

Bertella, A. (2019). Bioarômes naturels d'écorces d'agrumes : nouvelles molécules pour lutter contre les infections bactériennes. Chimie & Intérêts, 23(1), 39-42.

Bertella, A. (2019). Extraction and analysis of bioactive compounds from citrus peel waste.

Waste Management, 86, 171-188.

Burger, P., Plainfossé, H., Brochet, X., Chemat, F., & Fernandez, X. (2019). Extraction of natural fragrance ingredients: History overview and future trends. *Chemistry & biodiversity*, 16(10), e1900424.

Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Allem, R., & Benkaci-Ali, F. (2019). Solvent-free extraction of essential oil from Algerian myrtle leaves by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide extraction. *Heliyon*, 5(1), e01145.

Bonnafous, A. (2013). L'extraction supercritique du caroténoïde extrait de l'écorce d'orange. Université de Montpellier.

Boukobza, L. (2021). Ecologie de deux bioagresseurs des agrumes, *Lepidosaphes beckii* Newmann (Hom: Diaspididae) et *Icerya purchasi* (Hom: Monophlebidae) dans la région de Rouiba et Sidi Moussa (Thèse de doctorat).

Bendebka, S., & Chiba, H. (n.d.). Synthesis and determination of artificial flavor (Benzyl acetate) and its preservatives. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry*, 7(1), 21-26.

Burdock, J.A. (2010). *Encyclopedia of Food Color Additives (Volume 2)*. CRC Press.

Bangulzai, N., Ahmed, M., Fatima, M., Abdullah, M., Ul, M. I., Haq, M. A. K., & Qasim, M. (2022). A Re-view: Various Management Strategies Against Antifungal Activities in Citrus. *The International Journal of Biological Research*, 5, 1-17.

Ben Hsouna, A., Ben Halima, N., Smaoui, S., & Hamdi, N. (2017). Citrus lemon essential oil: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. *Lipids in health and disease*, 16, 1-11.

C

Chandrasekaran, M., Basheer, S. M., Chellappan, S., Krishna, J. G., & Beena, P. S. (2015).

Enzymes in food and beverage production: an overview. *Enzym Food Beverage Process CRC*

Press, 25, 133-154.

Chen-Yen-Su, A. (2014). Analyse morphologique et profils aromatique, sensoriel du cacao du Sambirano (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

CHÈNÉ, C. (2022). Les additifs comme dangers chimiques dans les aliments. Les dangers dans la chaîne de transformation et de distribution des denrées alimentaires, 189.

Clark, S., & Winter, C. K. (2015). Diacetyl in foods: a review of safety and sensory characteristics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 634-643.

Chenni, M. (2016). Production of essential oils by steam distillation: a review. *Industrial Crops and Pro-ducts*, 83, 121-129.

Chenni, M. (2016). Extraction d'arôme naturel. Laboratoire de Génie des Procédés Alimentaires, Ecole Na-tionale Supérieure d'Agroalimentaire (ENSAIA), Vandoeuvre-lès-Nancy.

ChemAxon. (n.d.). Retrieved from <https://www.chemaxon.com/>

Chen-Yen-Su, A. (2014). Analyse morphologique et profils aromatique, sensoriel du cacao du Sambirano (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

Ciriminna, R., Fidalgo, A., Delisi, R., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. (2016). Pectin production and global market. *Agro Food Ind. Hi-Tech*, 27(5), 17-20.

Codex Alimentarius Commission. (2019). General standard for food additives. Retrieved from <http://www.fao.org/3/ca4292en/ca4292en.pdf>

D

Dabo, A. M. (2022). Plantes médicinales utilisées comme aphrodisiaques dans le monde (Doctoral dissertation, USTTB).

Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la

notion de chémotype en aromathérapie. [Thèse de doctorat]. Université d'AixMarseille, France, 172p.

Dorman, H. J., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.

Du, X., Sissons, J., Shanks, M., & Plotto, A. (2021). Aroma and flavor profile of raw and roasted *Agaricus bisporus* mushrooms using a panel trained with aroma chemicals. *LWT*, 138, 110596.

Dragone, G., Mussatto, S. I., Oliveira, J. M., & Teixeira, J. A. (2009). Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. *Food Chemistry*, 112(4), 929-935.

E

EFSA. (2010). Arômes. Récupéré sur <https://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/flavourings>

EFSA. (2016). Arômes. Récupéré sur <https://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/flavourings>

European Commission. (2012). Flavorings in foodstuffs. Retrieved from https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_flavourings.pdf

European Food Safety Authority. *EFSA J.* 2010, 8 (10), 1747

Etiévant, P. X. (2017). Wine. In *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483-

546). Routledge.

F

FAOSTAT. (2021). *FAO Food and Agriculture Statistics*. Récupéré sur <https://www.fao.org/food-agriculture-statistics/en/>

G

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2008). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.

González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2010). Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 51(2), 327-345.

H

Hessas, M. (2018). *Obtention des arômes alimentaires*. Université d'Oran.

Hunter, J. A., & Brogden, R. N. (1965). The volatile constituents of the oil of the orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 16(5), 354-360.

I

Ikeda, T., & Spitler, J. G. (1964). Flavor components of grapefruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 12(5), 427-429.

J

Janick, J. (2005). The origins of fruits, fruit growing, and fruit breeding. *Plant breeding reviews*, 25(1), 255-320.

Jeleń, H., & Gracka, A. (2016). Characterization of aroma compounds: structure, physico-chemical and sensory properties. *Flavour: From food to perception*, 126-153.

Janick, J. (2005). The origins of fruits, fruit growing, and fruit breeding. In *Plant breeding reviews*, volume 25 (pp. 255-320). Oxford, Royaume-Uni: Wiley & Sons.

K

Kanatt, S. R., Chander, R., & Sharma, A. (2019). Solvent extraction for natural product isolation: Process and principle. *Handbook of Natural Products Isolation*, 51-84.

Kanatt, S. R., Chander, R., & Sharma, A. (2019). Citrus peels: a novel source for functional and value-added products. *Journal of food science and technology*, 56(5), 2059-2070.

Khan, U. M., Sameen, A., Aadil, R. M., Shahid, M., Sezen, S., Zarrabi, A., ... & Butnariu, M. (2021). Citrus genus and its waste utilization: a review on health-promoting activities and industrial application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1-17.

L

Lagha-Benamrouche, S., Addar, L., Boudershem, H., Saïda, T. A. N. I., & Madani, K. (2018). Caractérisation chimiques des écorces d'oranges, identification par GC-MS et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles. *Revue Nature et Technologie*, 10(01), 112-115.

Laoubi, K., & Yamao, M. (2009). A typology of irrigated farms as a tool for sustainable agricultural development in irrigation schemes: The case of the East Mitidja scheme, Algeria. *International Journal of Social Economics*, 36(3), 310-324.

Li, Z. H., Cai, M., Liu, Y. S., Sun, P. L., & Luo, S. L. (2019). Antibacterial activity and mechanisms of essential oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*. *Molecules*, 24(8), 1577.

Liu, Y., Benohoud, M., Yamdeu, J. H. G., Gong, Y. Y., & Orfila, C. (2021). Green extraction of polyphenols from citrus peel by-products and their antifungal activity against *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry: X*, 12, 100144.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.

Loveday, H., & Garouste, F. (2019). *Guide Olizane IRAN: De la Perse ancienne à l'Etat moderne*. Editions Olizane.

M

MacLeod, A. J., & Buigues, C. G. (1964). Nootkatone, a new grapefruit ketone. II. The structure of nootkatone. *Canadian Journal of Chemistry*, 42(7), 1736-1744.

MEYS. (2020). Oranges in Algeria. Récupéré sur <https://www.meys.eu/en/campaigns/oranges-algeria/>

M'Hiri, N. (2015). Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Tunis: INAT.

Mnayer, D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Autre. Université d'Avignon.

N

Newman, C. W., & Newman, R. K. (2006). A brief history of barley foods. *Cereal foods world*, 51(1), 4-7.

Nicole, T., & François, G. (2013). Des fruits et des graines comestibles du monde entier. Lavoisier.

Nieto, G., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., Peñalver, R., Ros, G., & Viuda-Martos, M. (2021). Valorization of citrus co-products: Recovery of bioactive compounds and application in meat and meat products. *Plants*, 10(6), 1069.

Nidhi, P., Rolta, R., Kumar, V., Dev, K., & Sourirajan, A. (2020). Synergistic potential of *Citrus aurantium* L. essential oil with antibiotics against *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 262, 113135.

O

O'Bannon, J. H. (1977). Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. *Journal of nematology*, 9(1), 16.

Ouis, N. (2015). Étude des procédés d'extraction de l'huile essentielle de thym par hydrodistillation : optimisation de l'extraction et caractérisation des huiles obtenues. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine.

P

Paquot, M. (2010). Analyse structurale des carraghénanes par hydrolyse enzymatique. Thèse

de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale.

Portes, E. (2008). Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes: propriétés photochimiques et antioxydantes: applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. Thèse de doctorat, Bordeaux 1.

R

Reyrolle, M. (2022). Empreinte volatile des produits agroalimentaires: un nouvel outil pour tracer l'authenticité et suivre des procédés (Doctoral dissertation, Université de Pau et des Pays de l'Adour).

Rowe, D. J. (2012). Natural aroma chemicals for use in foods and beverages. In *Natural Food Additives, Ingredients and Flavourings* (pp. 212-230). Woodhead Publishing.

S

Schimmenti, E., Borsellino, V., & Galati, A. (2013). Growth of citrus production among the Euro-Mediterranean countries: Political implications and empirical findings. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(3), 561-577.

Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., & Lewinsohn, E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The plant journal*, 54(4), 712-732.

Seisun, D. (2012). Overview of the Food Hydrocolloids Market. In *Gums and Stabilisers for the Food Industry 16* (pp. 1-22). RSC Publishing.

Shaw, P. E. (1979). The volatile constituents of citrus fruit. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 11(4), 387-408.

Shorbagi, M., Fayek, N. M., Shao, P., & Farag, M. A. (2022). Citrus reticulata Blanco (the common mandarin) fruit: An updated review of its bioactive, extraction types, food quality, therapeutic merits, and bio-waste valorization practices to maximize its economic value. *Food Bioscience*, 101699.

Spreen, T. H., Gao, Z., Fernandes Jr, W., & Zansler, M. L. (2020). Global economics and marketing of citrus products. In *The genus citrus* (pp. 471-493). Woodhead Publishing.

Sriamornsak, P. (2011). Application of pectin in oral drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 8(9), 1009-1023.

Stanley, R., & Bauer, K. (1961). Aromatic aldehydes and ketones of orange peel oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 9(2), 121-124.

Starowicz, M., & Zieliński, H. (2019). How Maillard reaction influences sensorial properties (color, flavor and texture) of food products? *Food Reviews International*, 35(8), 707-725.

Suri, S., Singh, A., Nema, P. K., Malakar, S., & Arora, V. K. (2022). Sweet lime (*Citrus limetta*) peel waste drying approaches and effect on quality attributes, phytochemical and functional properties. *Food Bioscience*, 48, 101789.

T

Thomaz, D. Y., Malmegrim, K. C. R., & Panagio, L. A. (2008). Lobophorolide: A Potent Antifungal Compound Produced by the Endophytic Fungus *Myrothecium* sp. Associated with the Alga *Lobophora variegata*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19(8), 1606-1610.

Triaux, C. (2019). Développement de méthodes d'extraction d'arômes par voie enzymatique et assistée par ultrasons. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

Trisha, T., Naman, S., Chauhan, N. S., & Baldi, A. (2022). Regulatory Framework

for Flavors and Fragrances: Comprehensive Suggestive Guidelines. In *Flavors and Fragrances in Food Processing: Preparation and Characterization Methods* (pp. 479-506). American Chemical Society.

V

Vicente-Sánchez, J., Agulló, C., González-Coloma, A., & Reina, M. (2021). Volatile Organic Compounds from Essential Oils and Extracts of Five Eucalyptus Species with Antifeedant and Toxic Activity against the Cowpea Weevil (*Callosobruchus maculatus*). *Molecules*, 28(4), 1636.

Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159-178.

W

Wicker, L., Kim, Y., Kim, M.-J., Thirkield, B., Lin, Z., & Jung, J. (2014). Pectin as a bioactive polysaccharide - Extracting tailored function from less. *Food Hydrocolloids*, 42, 251-259.

Willats, W. G., Knox, J. P., & Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), 97-104.

Wolford, R. W., Henry, C. J., & Wierenga, W. (1971). Volatile flavor components of orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(3), 522-525.

Z

Zhang, W., Cai, Z., Zhu, Y., & Jin, Y. (2018). Optimization of supercritical CO₂ extraction of carotenoids from citrus peel by response surface methodology. *Journal of Food Science*, 83(9), 2329-2336.

Zhu, G., & Xiao, Z. (2022). Flavors and Fragrances: Structure of Various Flavors with Food Ingredients. In *Flavors and Fragrances in Food Processing: Preparation and Characterization Methods* (pp. 21-188).

