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

Université Dr Yahia FARES de MEDEA
Faculté de Technologie



DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES ET ENVIRONNEMENT

THESE DE DOCTORAT (LMD)

En Génie des Procédés
Spécialité : **Génie des Energies Renouvelables**

Thème

Conversion des déchets et sous-produits organiques de l'industrie agroalimentaire en produits énergétiques

Présenté par :
FERARSA Soumia

Devant le jury :

Khalladi Razika	(MCA)	Univ-Médéa	Président
Benmaamar Zoubir	(PR)	Univ-Blida	Examinateur
Zouambia Yamina	(MCA)	Univ-Médéa	Examinateur
Moulai-Mostefa N.	(PR)	Univ-Médéa	Directeur de thèse
Ding Luhui	(PR)	Univ-Compiègne (France)	Co-Directeur de thèse

Promotion 2018-2019

Remerciements

بسم الله الرحمن الرحيم

« Au Nom de Dieu, Le Clément, Le Miséricordieux »

Avant tout, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience afin de réaliser ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs années de labour.

J'exprime toute ma profonde reconnaissance à mon directeur de thèse Monsieur Nadji Moulai-Mostefa, Professeur à l'Université de Médéa pour m'avoir dirigé et conseillé, ainsi pour sa patience et pour toute la liberté qu'il m'a accordé aux cours de mes années de doctorat.

De même, j'adresse mes plus vifs remerciements au Professeur Luhui Ding, pour m'avoir accueilli au sein de son Laboratoire de Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable (TIMR) de l'Université de Technologie de Compiègne (UTC-France) et pour m'avoir offert la possibilité de réaliser une partie de mes expériences qui se sont révélées très enrichissantes.

J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur Nabil Grimi, Maître de Conférences à l'UTC pour m'avoir guidé au cours de mes stages au sein du laboratoire (TIMR) au Centre de Recherches de Royallieu (UTC) pour la réalisation de la deuxième partie de cette thèse, ainsi que pour sa sympathie, sa disponibilité, sa rigueur scientifique et grâce à lui que j'ai pu faire un travail publiable. Je ne trouverai jamais les mots les plus appropriés pour exprimer la reconnaissance que je lui porte pour la qualité de ses conseils et pour ses encouragements.

Je suis également redevable envers les membres du jury qui ont lu, analysé et critiqué cette thèse. Je remercie Madame Khalladi Razika, Maître de Conférences A à l'Université de Médéa d'avoir accepté de présider le jury. Je remercie également Madame Zouambia Yamina, Maître de Conférences A à l'Université de Médéa et Monsieur Ben Maamar Zoubir, Professeur à l'Université de Blida qui ont accepté de juger ce travail. Leurs remarques et commentaires me seront très précieux pour la suite de mes recherches.

Je remercie tout particulièrement le Docteur Mohamed Koubaa du Laboratoire (TIMR), qui m'a beaucoup aidé lors de réalisation de mes expériences, pour sa disponibilité et ses judicieux conseils scientifiques. Je tiens également à remercier Monsieur Bruno Dauzat pour son aide lors des analyses de mes extraits par HPLC.

Mes vifs et sincères remerciements vont également à Monsieur Kaddour Omar et à Monsieur Atek, professeurs à l'université de Boumerdes (FHC), pour la réalisation des caractéristiques physico-chimiques des biodiesels au niveau du Laboratoire de Combustibles et Lubrifiants.

J'exprime ma gratitude à l'ingénieur de Laboratoire Biomatériaux et Phénomènes de Transport (LBMPT) Othman pour les aides illimitées et au docteur Kaouthar Ezzerouk pour son aide.

J'aimerais remercier également, la gentillesse, et le support que j'ai reçu de mes chers amies, ainsi que pour les nombreux services et aides qu'elles m'ont accordées durant mon stage à l'étranger (France-Compiègne), Nadwa, Caiyun, Lucie, Charlotte, Mariana et Donia. Les moments passés avec vous font partie des meilleurs souvenirs.

Ma gratitude va également à toutes mes amies en Algérie qui m'ont apporté une aide considérable par leur présence et leur amitié, et plus spécialement, Hafidha, Mounira, Naima, Amina et Nassima.

Je réserve mes derniers remerciements à mes proches. Je remercie les deux personnes que j'aime le plus au monde, sans qui je ne serais rien et pour qui je sacrifierais tout sans hésiter, mon grand-père Abdelkader et ma mère que Dieu les protège. Sans leur affection et patience je n'aurais jamais pu mener à terme cette thèse. J'espère par ce modeste travail avoir répondu à leur souhait de me voir réussir dans la voie que j'ai choisie. Je remercie mon père pour la confiance et la liberté de choix que vous m'avez offert dans ma vie; une grande chance pour laquelle je ne saurai comment te remercier.

Je remercie mes sœurs Rabab et Ahlem, mes frères Belkacem, Menad et Ahmed pour leurs encouragements continus qu'ils ont consentis pour ma réussite. Vous avez su m'épauler, me soutenir et me pousser à aller toujours plus loin. Un merci pour mes beaux-frères, Noureddine et Mourad, en témoignage de l'effort qu'ils ont déployé pour m'aider et m'encourager, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et affection.

Mes neveux Haithem, Mustafa Issam Eddine, Tamim, Ahmed Rasim et mes nièces Hamsa et Chahd Mayassine, que Dieu les protège, que j'aime tendrement.

A la mémoire de ma grande mère

Résumé

Ce travail a pour objectif principal de valoriser les grignons d'olive (GO), un des principaux sous-produits issus de la production d'huile d'olive, et les pellicules d'aubergine par la synthèse de biodiesel de deuxième génération à base de la biomasse oléagineuse des GO d'une part et l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'aubergine d'autre part. La production du biodiesel a été achevée par le procédé d'estérification/trans-estérification en deux étapes. Ce procédé a été appliqué de deux manières différentes : (1) sur la biomasse séchée des grignons d'olives directe (In-situ), et (2) sur son huile extraite (conventionnelle). Les biodiesels produits ont été soumis à des caractérisations physico-chimiques et rhéologiques appropriées. Les résultats obtenus montrent L'EMAG issu de la méthode directe (In-situ) présente le meilleur rendement de 98,46% dans un temps de production extrêmement court (la suppression totale de la pré-extraction d'huile) et de meilleures performances énergétiques relativement à l'indice d'acide (0,26 mg KOH/g $_{biodiesel}$), point d'éclair (128°C), l'indice de cétane (50,4), point trouble (-3°C), point de congélation (-8 °C) et point d'écoulement (-5°C). De plus, la viscosité à 40°C a diminué de 34,76 mm^2/s à 6,19 et 6,17 pour $EMAG_{HGO}$ et $EMAG_{GO}$ respectivement. Les autres principales propriétés mesurées de ces biodiesels ont montré une intéressante conformité avec les normes internationales de Diesel conventionnel. Les spectres infrarouges de deux biodiesels obtenus reflètent parfaitement la structure du biodiesel. L'étude rhéologique aux deux températures 20 et 40°C a illustré un comportement pseudo-plastique suivi par un comportement newtonien pour les deux EMAG élaborés. Deux méthodes d'extraction à savoir l'extraction conventionnelle et extraction assistée par ultrasons (EAU) ont été utilisées pour la récupération des composés phénoliques à partir des pulpes et des pellicules d'aubergine. Une étude paramétrique est envisagée à fin d'optimiser les conditions d'extraction (le pH et la nature du solvant d'extraction, la température, et l'état de la matière végétale (broyées/découpées)). L'effet du temps de prétraitement des pulpes et de pellicules découpées en morceaux par ultrasons a été également évalué. Les meilleures teneurs en polyphénols totaux (23,10 $mgEAG/g_{MS}$ et de 7,83 $mgEAG/g_{MS}$ pour les pellicules et les pulpes respectivement) ont été obtenus à pH=2, température=75°C avec broyage de la matière végétale. L'EAU mène à une amélioration du rendement en composés phénoliques à 29,01 $mgEAG/g_{MS}$. Ce procédé a permis d'isoler 5 composés anthocyaniques vs. 3 composés isolés par macération à froid. L'activité antioxydante d'extrait de pellicule découpée et traitée aux US est le plus active que celui non-traité (CI_{50} = 7,048 µg/ml pour US_{30} vs CI_{50} = 24,257 µg/ml pour T_{60}).

Mots-clés : Biomasse, valorisation, biodiesel, composés phénoliques, in-situ, extraction assistée par ultrasons, activité antioxydante.

Abstract

The main purpose of this study is to valorize olive pomace (OP), one of the main by-products of the olive oil extraction process, and eggplant peels through the synthesis of biodiesel based on OP oleaginous biomass, on the one hand, and the extraction of phenolic compounds from eggplant peels, on the other hand.

Biodiesel production was achieved by the two-stage esterification/trans-esterification method. This chemical process was applied in two different ways: on the dried biomass of OP (in-situ), and on its extracted oil (conventional). The produced biodiesels were subjected to appropriate physico-chemical, structural and rheological characterizations. The results showed the decrease of kinematic viscosity from 34,7 mm^2/s to 6,19 and 6,17 mm^2/s for $FAME_{OOP}$ and $FAME_{OP}$ respectively. The other main measured properties of these biodiesels was found within international standards of conventional diesel. The FTIR spectra of two synthesized biodiesel perfectly reflect the structure of FAME. The rheological study illustrated a pseudo-plastic behavior followed by a Newtonian behavior for the two esters. In addition, the produced biodiesel from the direct method (in-situ) has the best yield of 98,46% obtained in an extremely short production time (the complete suppression of the oil pre-extraction) and better energy performance relative to the acid number (0,26 mg KOH/$g_{biodiesel}$), flash point (128°C), cetane number (50,4), cloudy point (-3°C), freezing point (-8°C) and pour point (-5°C).

Two extraction methods, namely conventional extraction and ultrasonic assisted extraction (UAE), were used for the recovery of phenolic compounds from eggplant pulps and peels. The optimization was carried out by a parametric study of the extraction conditions including pH medium, solvent composition, temperature and nature of particles (square and ground). The effect of pretreatment ultrasonic time on phenolic compounds extraction from the two parts of eggplant was also evaluated. The best yield of total phenolic compounds (23,10 mgGAE/g_{MS} and 7,83 mgGAE/g_{MS} for the peels and pulps, respectively) were obtained at pH= 2, temperature of 75°C with grinding of the plant material. The UAE leads to an improvement in the yield of phenolic compounds to 29,01 mgGAE/g_{MS}. This process made it possible to isolate 5 anthocyanin compounds vs. 3 compounds isolated by cold maceration. The antioxidant activity of extract of square peels treated by US is the most active than the untreated one (IC_{50} = 7,048 µg/ ml for US_{30} vs IC_{50} = 24,257 µg/ml for T_{60}).

Keywords: Biomass, valorize, biodiesel, phenolic compounds, in-situ, ultrasound-assisted extraction, antioxidant activity.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تثمين ثفل الزيتون, أحد المنتجات الثانوية لعملية إستخراج زيت الزيتون, وقشور الباذنجان من خلال تحويل الكتلة الحيوية الزيتية (ثفل الزيتون) الى وقود الديزل الحيوي, من ناحية, واستخراج المركبات الفينولية من قشور الباذنجان من ناحية أخرى.

قد تم إنتاج الديزل الحيوي باستخدام تفاعل الأسترة على مرحلتين. طبقت هذه العملية الكيميائية بطريقتين مختلفتين: على الكتلة الحيوية المجففة لثفل الزيتون (الطريقة المباشرة او الموقعية), وعلى زيتها المستخرج (الطريقة التقليدية). لقد خضع وقود الديزل الحيوي المنتج لمواصفات فيزيائية–كيميائية، هيكلية وريولوجية ملائمة. أظهرت النتائج انخفاضا في اللزوجة الكينماتيكية من 34,7 مم²\ثانية إلى 6,17 مم²\ثانية و6,19 مم²\ثانية بالنسبة لوقود الحيوي المنتج من ثفل الزيتون ومن زيته المستخلص على التوالي. أما الخصائص الرئيسية الأخرى المقاسة لكل من الوقود الحيوي المنتج فقد وجدت ضمن المعايير الدولية للديزل الاحفوري (التقليدي). تحليل عينات الديزل الحيوي بجهاز طيف الأشعة تحت الحمراء (FTIR) اثبتت بنية الأستر ميثيل. كما أوضحت الدراسة الريولوجية أن لكلا من الوقود الديزل الحيوي سلوكين اثنين (غير نيوتوني ونيوتوني). بالإضافة إلى ذلك، ان الطريقة المباشرة (او الموقعية) أعطت أعلى نسبة تحويل (98,46 %) في وقت قصير (دون المرور بخطوة إستخراج الزيت). تمت مقارنة خصائص الوقود المنتج من الكتلة الحيوية المجففة لثفل الزيتون بمواصفات الديزل الاحفوري، حيث كان المؤشر الحمضي (0,26 ملغKOH/g وقود الديزل الحيوي)، نقطة الوميض (128°مئوية)، الرقم السيتاني (50,4)، نقطة السحاب (−3°مئوية)، نقطة التجمد (−8°مئوية) ونقطة التدفق (−5°مئوية).

تم استخدام طريقتين للاستخراج المركبات الفينولية من لب وقشور الباذنجان، وهما الاستخراج التقليدي والاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية (US). تم إجراء تحسين عملية استرداد هاته المركبات من خلال دراسة شروط الاستخراج بما في ذلك درجة الحموضة, تركيبة المذيبات, درجة الحرارة وحالة المادة النباتية (مسحوقة / مقطعة). كما تم تقييم تأثير فترة المعالجة بالموجات فوق الصوتية على إستخراج المركبات الفينولية من جزأي الباذنجان المقطعة. أظهرت النتائج أن درجة الحموضة = 2, درجة حرارة 75°مئوية مع سحق المادة النباتية تمثل الشروط الأكثر ملاءمة لاستخراج مستويات عالية من إجمالي المركبات الفينولية (23,10 و7,83ملغ / غ معادل حمض قاليك من القشور واللب، على التوالي). في حين تقنية الموجات فوق صوتية ادت إلى تحسين استخراج المركبات الفينولية إلى 29,01 ملغ/غ معادل حمض قاليك. مكّن الاستخراج عن طريق الموجات فوق صوتية من عزل 5 مركبات أنثوسيانين مقابل 3 مركبات معزولة بالطريقة التقليدية. النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص قشور الباذنجان المقطعة والمعالجة بالموجات فوق صوتية هو الأكثر نشاطًا من غير المعالجة (IC_{50}= 7,048 ميكروغرام/ مل بالنسبة US_{30} مقابل IC_{50}=24,257 ميكروغرام/ مل بالنسبةT_{60} (النقع البارد)).

الكلمات المفتاحية: الكتلة الحيوية، تثمين, الديزل الحيوي, المركبات الفينولية, الطريقة او الموقعية, الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية, النشاط المضادة للأكسدة .

Sommaire

Sommaire

Liste des symboles et abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale…….. **1**

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Biocarburants

I.1. Introduction……... **3**

I.2. Biocarburants…… **4**

I.2.1. Production des biocarburants…… **4**

I.2.2. Les différentes générations de biocarburants…… **5**

I.3. Biomasse résiduelle issue de l'industrie oléicole…….. **6**

I.3.1. Extraction de l'huile d'olive…….. **6**

I.3.2. Sous-produits oléicole…….. **7**

I.4. La biomasse des grignons d'olive…….. **7**

I.4.1. Composition chimique…….. **8**

I.4.2. Valorisation des grignons d'olive…….. **8**

I.5. Biodiesel……..... **10**

I.5.1. Principales sources de matières premières pour la production du biodiesel……... **10**

I.5.2. Production de biodiesel……. **10**

I.5.2.1. Dilution…….. **10**

I.5.2.2. Microémulsion……... **11**

I.5.2.3. Trans-estérification…… **11**

I.6. Procédé de trans-estérification……..... **11**

I.6.1. Trans-estérification classique……... **11**

I.6.2. Trans-estérification in-situ…… **13**

I.6.3 Comparaison entre la trans-esterification in-situ et classique……. **13**

I.7. Propriétés et qualités du biodiesel…… **14**

I.7.1. Viscosité……... **14**

I.7.2. Densité…….. **14**

I.7.3. Indice de cétane……. **15**

I.7.4. Indice d'acidité……..... **15**

I.7.5. Point d'éclair……. **15**

I.7.6. Propriétés d'écoulement à froid..... **15**

I.8. Avantages et inconvénients du biodiesel..... **16**

Chapitre II : Antioxydants phénoliques naturels

II.1. Introduction..... **18**

II.2. Antioxydants..... **18**

II.3. Les composés phénoliques..... **19**

II.4. Activité antioxydante des composés phénoliques..... **21**

II.5. Sources des antioxydants phénoliques..... **22**

II.5.1. Sources végétales..... **22**

II.5.2. Déchets et sous-produits de l'industrie agro-alimentaire..... **22**

II.6. Aubergine, une source végétale des antioxydants phénoliques..... **23**

II.6.1. Généralité sur l'aubergine..... **23**

II.6.2. Principaux composés phénoliques des aubergines..... **24**

II.6.2.1. Composés non flavonoïdes..... **24**

II.6.2.2. Composés flavonoïde..... **25**

a/ Anthocyanes..... **25**

b/ Flavonols..... **27**

II.7. Méthodes d'extraction des composes phénoliques..... **28**

II.7.1. Méthodes conventionnelles..... **28**

II.7.1.1. Définitions et mécanismes..... **28**

II.7.1.2. Paramètres influençant l'extraction solide-liquide..... **29**

a/ Nature du solvant et pH..... **29**

b/ Couple temps-température..... **30**

c/ Rapport liquide-solide..... **30**

d/ Taille des particules..... **31**

II.7.2. Méthodes émergentes d'intensification de l'extraction..... **31**

II.8. Extraction assistée par ultrasons (EAU) **32**

II.8.1. Définition..... **32**

II.8.2. Equipements de traitement..... **32**

II.8.3. Mécanismes d'action..... **33**

II.9. Méthodes de caractérisation des composés phénoliques..... **36**

II.9.1. Méthode spectrophotométrique..... **36**

II.9.2. Méthode chromatographique HPLC…… **37**

II.10. Évaluation de l'activité anti-oxydante des composés phénoliques par le test DPPH…… **38**

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Introduction…… **40**

III.2. Matières premières…… **40**

III.2.1. Grignons d'olive…… **40**

III.2.2. Aubergine…… **40**

III.3. Préparation de matières premières…… **40**

III.3.1. Séchage et broyage de grignons d'olive…… **40**

III.3.2. Épluchage et découpage des aubergines…… **41**

III.4. Valorisation des grignons d'olive en produit énergétique…… **41**

III.4.1. Extraction de l'huile de grignons d'olive par Soxhlet…… **42**

III.4.2. Production de biodiesel par estérification/trans-estérification en deux étapes… **43**

III.4.2.1. Estérification par un acide…… **43**

a/ Estérification de l'HGO extraite (conventionnelle) …… **43**

b/ Estérification du broyat des grignons d'olive (in-situ) …… **44**

III.4.2.2. Trans-estérification par une base…… **45**

III.4.3. Séparation des phases et purification des esters méthyliques…… **46**

III.5. Valorisation de la biomasse d'aubergines en bioproduits…… **47**

III.5.1. Optimisation des paramètres opératoires influençant l'extraction conventionnelle des composés phénoliques…… **48**

III.5.1.1. Extraction à partir de biomasse découpée en morceaux…… **48**

III.5.1.2. Extraction à partir de la biomasse non-découpée (broyée)…… **48**

III.5.2. Optimisation du temps d'extraction assistée par ultrason…… **49**

III.6. Techniques d'analyse et de caractérisation…… **50**

III.6.1. Analyses des solides (matières premières) …… **50**

III.6.1.1. Matière sèche…… **50**

III.6.1.2. Teneur des grignons d'olive en lipides totaux…… **50**

III.6.2. Analyses des liquides…… **51**

III.6.2.1. Caractérisation physico-chimiques de l'huile des grignons d'olives extraite **51**

a/ Indice d'acide…… **51**

b/ Indice de saponification…… **51**
c/ Indice de peroxyde…… **52**
b/ Analyse spectrophotométrique dans l'Ultra-Violet…… **53**
e/ Estimation de la masse molaire moyenne…….... **53**
f/ Indice de réfraction…… **53**
g/ Densité…….... **54**
h/ Viscosité cinématique…… **54**
III.6.2.2. Caractérisation physico-chimiques des biodiesels élaborés…… **55**
a/ Point d'éclair…….... **56**
b/ Points de congélation, d'écoulement et de trouble…….... **56**
c/ Indice de cétane…….... **57**
d/ Couleur……... **58**
III.6.2.3. Caractérisation des extraits phénoliques…….. **59**
a/ Dosage des composés phénoliques totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu. **59**
b/ Identification des composés phénoliques par chromatographie liquide haute performance……..... **60**
c/ Détermination de l'activité anti-oxydante par la méthode de DPPH…… **61**
III.6.2.4. Caractérisation structurale des pellicules par microscopie électronique à balayage……..... **62**
III.6.2.5. Caractérisation spectrale des liquides huileux par Infra-Rouge à Transformée de Fourier……..... **62**
III.6.2.6. Analyse rhéologique des liquides huileux…….... **63**
III.7. Analyse statistique…….. **64**

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Introduction……..... **65**
IV.2. Analyses des matières premières……... **65**
IV.2.1. Teneur en matière sèche…… **65**
IV.2.2. Teneur des grignons d'olive en lipides totaux (%)…….. **66**
IV.3. Analyses des liquides……... **66**
IV.3.1. Caractérisation physico-chimiques de l'huile des grignons d'olives extraite…. **66**
IV.3.2. Comparaison entre les biodiesels produits et leurs caractérisations physico-chimiques……..... **68**

IV.3.2.1. Comparaison entre les biodiesels issus de l'estérification/trans-estérification directe et indirect…….... **68**
IV.3.2.2. Caractérisations physico-chimiques des biodiesels synthétisés…….. **71**
IV.3.3. Caractérisation colorimétrique des extraits phénoliques de l'aubergine……. **73**
IV.3.3.1. Influence des paramètres opératoires sur l'extraction conventionnelle des composés phénoliques sans broyage…….. **73**
a/ Effet du pH ……. **73**
b/ Effet de la teneur en éthanol dans le solvant…… **74**
c/ Effet de la température……. **76**
IV.3.3.2. Influence des paramètres opératoires sur l'extraction conventionnelle des composés phénoliques avec broyage fin…… **77**
IV.3.3.3. Influence du temps d'ultrason sur l'extraction des composés phénoliques….. **79**
IV.3.4. Caractérisation chromatographique par HPLC des extraits phénoliques de la pellicule d'aubergine…….. **80**
IV.3.5. Caractérisation de l'activité antioxydant des extraits phénoliques des pellicules d'aubergine…… **83**
IV.3.6. Caractérisation structurale par MEB des résidus de la pellicule d'aubergine…. **85**
IV.3.7. Caractérisation spectrale par FTIR des liquides huileux obtenus…….. **88**
IV.3.7.1. Caractérisation de l'huile des grignons d'olive extraite……... **88**
IV.3.7.2. Caractérisation des esters méthylique d'acide gras produits……..... **89**
IV.3.8. Caractérisation rhéologique des liquides huileux obtenus…….. **92**

Liste des symboles et abréviations

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
GES	Gaz à effet de serre
ER	Energies renouvelables
GIEC	Groupe d'Experts Intergouvernementaux sur l'Evolution du Climat
BP	British Petroleum
CO_2	Dioxyde de carbone
COI	Conseil Oléicole International
ITAFV	Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne
AGL	Acides gras libre
GO	Grignons d'olive
HGO	Huile du grignon d'olive
HOV	Huile d'olive vierge
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
EMAG	Esters méthyliques d'acides gras
FEM	Fraction d'esters méthyliques
MEB	Microscope électronique à balayage
US	Ultrasons
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
CI_{50}	Concentration inhibitrice de 50 % DPPH
AO	Activité antioxydante
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
EAG	Equivalent acide gallique
ASTM	American Society for Testing and Material
EN	European Norm
CE	Conseil Européen
CA	Codex Alimentaire
UTC	Université de Technologie de Compiègne
UV	Ultraviolet
CPT	Composés phénoliques totaux
API	American Petroleum Institute
FHC	Faculté des hydrocarbures et de la Chimie
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
EAU	Extraction assistée par ultrasons
NF	Norme française
EtOH	Ethanol
MeOH	Methanol
TG	Triglycérides
DG	Diglycérides
MG	Monoglycérides
GL	Glycérol
EOR	Espèces oxygénées réactives
MEB	Microscope électronique à balayage
ATP	Adénosine triphosphate
DAD	Diode-Array Detection
ANOVA	Analyse de la variance
ES	Extraction supplémentaires
Diff	Diffusion

Min	Minimum
Min	Minute
OP	Olive pomace
FAME	

Liste des symboles

Symbole	Unité	Signification
H	[%]	Taux d'humidité
MS	[%]	Taux de matière sèche
MF	-	Matière fraiche
$T_{lipides}$	[%]	Teneur en lipides totaux
pH	-	Potentiel hydrogène
T	[°C]	Température
MM	[g/mol]	Masse molaire
I_A	[%] ou [mg KOH/g]	Indice d'acide
I_S	[mg KOH/g]	Indice de saponification
I_P	[méq O_2/kg $_{huile}$]	Indice de peroxyde
I_R	-	Indice de réfraction
I_E	[mg KOH/g]	Indice d'ester
IC	-	Indice de cétane
ICC	-	Indice de Cétane Calculé
T_{Diff}	[°C]	Température de diffusion
T_{60}	-	Témoin (60 minute de diffusion)
$R_{L/S}$	-	Ratio liquide-solide
t_{US}	Minute	Temps de l'application des ultrasons
t_{Diff}	Minute	Temps de diffusion
V_{agit}	Tours/minute	Vitesse d'agitation

Liste des figures

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.1. Énergie dans le monde…… **3**
Figure I.2. Diagramme de production des biocarburants de la biomasse…… **5**
Figure I.3. Principaux procédés d'extraction de l'huile d'olive…… **7**
Figure I.4. Biomasse du grignon d'olive…… **8**
Figure I.5. Possibilités de valorisation des grignons d'olives…….. **9**
Figure I.6. Réaction de transestérification des triglycérides avec l'alcool……... **11**
Figure I.7. Les trois étapes successives et réversibles de la réaction de transestérification…… **12**
Figure I.8. Transestérification conventionnelle et transestérification in-situ……... **13**
Figure I.9. Cycle carbone du pétrole (A) et du biocarburant (B)…….. **17**

Chapitre II

Figure II.1. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant…… **19**
Figure II.2. Différentes catégories des composés phénoliques…… **20**
Figure II.3. Groupements et fonctions influençant l'activité anti-oxydante de la quercétine…… **21**
Figure II.4. Schéma détaillant la structure de l'aubergine. **(A)** : Fruit entier, **(B)** : coupe longitudinale de l'aubergine, **(C)** coupe transversale de la pulpe. **1** : Pulpe compacte, **2** : Pulpe spongieuse, **3** : Concentration de graines……... **24**
Figure II.5. Structure de base des flavonoïdes…… **25**
Figure II.6. Structure chimique de quelques anthocyanidines de base chez les fruits et légumes…… **26**
Figure II.7. Structures de base des flavonols……... **27**
Figure II.8. Mécanisme de l'extraction solide liquide et schéma de la diffusion à travers de la membrane cellulaire…… **29**
Figure II.9. Schéma des systèmes à ultrasons couramment utilisés : bain (A) et sonde (B)…… **33**
Figure II.10. Cycle de croissance de la bulle de cavitation par l'action des ultrasons….. **33**
Figure II.11. Evolution d'une bulle de cavitation à proximité d'une surface solide……. **34**
Figure II.12. Mécanisme proposé de l'effet des bulles de cavitation sur la surface d'une matrice végétale……..... **35**

Figure II.13. Observation microscope par MEB la surface des feuilles de trichomes **(A)** et des pellicules de fruits d'Opuntia. *Stricta (***B)**…… **35**
Figure II.14. Réduction du Réactif Folin-Ciocalteu…… **37**
Figure II.15. Réaction de transfert-H d'un composé phénolique (Ar-OH) vers DPPH… **39**

Chapitre III

Figure III.1. Les matières premières étudiées…… **40**
Figure III.2. Les matières premières préparées……... **41**
Figure III.3. Démarche expérimentale adoptée……... **41**
Figure III.4. Protocole d'extraction et purification de l'HGO……..... **42**
Figure III.5. Montage de chauffage à reflux……... **42**
Figure III.6. Diagramme d'estérification de l'HGO (A) et du GO (B)…… **44**
Figure III.7. Diagramme de trans-estérification de l'HGO et du GO…….. **45**
Figure III.8. Représentation des étapes de séparation et purification des esters éthyliques……..... **46**
Figure III.9. Protocole expérimental suivi pour la récupération des composés phénoliques traitements……... **48**
Figure III.10. Générateur des ultrasons à sonde utilisés lors de l'EAU……... **49**
Figure III.11. Appareils pour mesurer la matière sèche des matières premières…….. **50**
Figure III.12. Densimètre portable électronique…… **54**
Figure III.13. Photographie d'un bain viscosimétrique thermostaté déterminant la viscosité cinématique (b) et schéma d'un viscosimètre à tube capillaire Ubbelohde (a)... **55**
Figure III.14. Photographie d'un appareil mesurant le point d'éclair…… **56**
Figure III.15. Analyseur des points trouble, congélation et écoulement…… **56**
Figure III.16. Photographie d'un colorimètre comparative…… **58**
Figure III.17. Echelle de couleur……..... **59**
Figure III.18. Exemple de courbe d'étalonnage de l'acide gallique dans de l'eau…….. **60**
Figure III.19. Photographie du spectrophotomètre Infra-Rouge à Transformée de Fourier……..... **63**
Figure III.20. Photographie du rhéomètre MCR 302 (b) avec (1) Stator, (2) Rotor et (3) plaque de contrôle de température Peltier. Micro-ordinateur d'acquisition (a) et Bain thermostaté (c)…… **64**

Chapitre IV

Figure IV.1. Les teneurs en matière sèche des grignons d'olive (A), et de l'aubergine (pellicules /pulpes) (B)…… **65**

Figure IV.2. Impact du pH sur l'extraction des composés phénoliques totaux par diffusion des échantillons (pulpes et pellicules) non broyés et broyés (Solvant : Eau ;$R_{L/S}$= 10 (m / m) ; T_{Diff}=25°C ; t_{Diff}= 60 min; V_{agit}=150 tr/min ; pH [2-7-12])…….. **74**

Figure IV.3. Impact de la teneur en éthanol sur l'extraction des composés phénoliques totaux par diffusion des échantillons (pulpes et pellicules) non broyés et broyés ($R_{L/S}$= 10 (m / m) ; T_{Diff}=25°C ; t_{Diff}= 60 min; V_{agit}=150 tr/min ; Solvant: EtOH/Eau [0-150-75-100] (% ; v/v))……. **75**

Figure IV.4. Impact de la teneur en éthanol sur l'extraction des composés phénoliques totaux par diffusion des échantillons (pulpes et pellicules) non broyés et broyés (Solvant: Eau acidifiée ; $R_{L/S}$= 10 (m / m) ; t_{Diff}= 60 min; V_{agit}=150tr/min ; T_{Diff} [25-50-75-100] (°C))…….. **77**

Figure IV.5. Impact de broyage sur l'extraction des composés phénoliques totaux par diffusion des échantillons (pulpes et pellicules) (Solvant: Eau acidifiée ; $R_{L/S}$= 10 (m / m) ; t_{Diff}= 60 min; V_{agit}=150 tr/min ; T_{Diff}= 75°C)……... **78**

Figure IV.6. Impact du temps des US sur l'extraction des composés phénoliques totaux des échantillons carrées (a) pellicules et (b) pulpes (La sonde à US [12 kHz-400 W] ; Solvant: Eau acidifiée; $R_{L/S}$= 10 (m / m); t_{us}= [10-20-30] min; t_{ES}= [30-40-50] min ; V_{agit}=150 tr/min; T_{diff}=25°C)……... **79**

Figure IV.7. Chromatogrammes HPLC-DAD à 543 nm des extraits aqueux$_{pH2}$ de la pellicule carrée-Diff$_{60}$et de la pellicule carrée-US$_{10,\ 20,30}$ (Conditions opératoires: pellicule d'aubergine carrée, solvant : Eau acidifiée, $R_{L/S}$= 10 (m/m), t $_{US}$= 10, 20, 30 (min), t $_{Diff}$=60 min, V_{agit}=150 tours/min. Identification des pics :Cn, cyanidine; Dp, delphinidine; Mv, malvidine; Pt, petunidine; glu, glucoside; rut, rutinoside)……... **81**

Figure IV.8. Effet du traitement par US à différents temps sur l'activité anti-oxydante des extraits de pellicules comparés à une simple diffusion (témoin)…… **83**

Figure IV.9. Relation entre la structure de delphinidine et sa capacité anti-oxydante….. **84**

Figure IV.10. Effet du temps des ultrasons sur la structure des pellicules d'aubergine observée au Microscope Electronique à Balayage. Couche interne (A) et externe (B) des pellicules résiduelles après une diffusion de 60 min (T_{60}) et après un traitement de

10 min (US_{10}), 20 min (US_{20}) et 30 min (US_{30}) aux ultrasons (US): sonde US, (12 kHz, 400W)…….. **86**

Figure IV.11. Comparaison des spectres infrarouge de l'HOV alimentaire (a) et l'HGO extraite (b)…… **88**

Figure IV.12. Comparaison des spectres infrarouge de l'HGO (a) et son Ester Méthylique d'Acide Gras $EMAG_{HGO}$ (b)……..... **90**

Figure IV.13. Spectre FT-IR de biodiesel de l'huile de poisson (A) et l'huile d'amande amère (B)……. **91**

Figure IV.14. Comparaison des spectres infrarouge des esters $EMAG_{GO}$ (a) et $EMAG_{HGO}$ (b)…….. **91**

Figure IV.15. Courbes de la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement pour des huiles (HGO, HOV) (A) et des $EMAG_s$ synthétisés (B), à 20 (ligne continue) et à 40°C (ligne discontinue)…….. **93**

Figure IV.16. Courbes de la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement pour des huiles végétales alimentaire (C) et des mélanges biodiesel d'huile de soja/pétro-diesel (D), à 25°C publiées dans la littérature……. **93**

Figure IV.17. Courbes de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour des huiles (HGO, HOV) (A) des $EMAG_s$ synthétisés (B), à 20°C (symboles vides) et à 40°C (symboles pleines), de l'HGO (C) et des mélanges biodiesel d'huile de soja/pétro-diesel (D), à 25°C publiées dans la littérature……..... **94**

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Chapitre III

Tableau III.1. Protocole expérimental de dosage Folin-Ciocalteu…….. **59**

Tableau III.2. Conditions du gradient d'analyse HPLC…….. **61**

Tableau III.3. Protocole expérimental de dosage DPPH……. **61**

Chapitre IV

Tableau IV.1. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile du grignon d'olive..... **67**

Tableau IV.2. Caractérisation des esters issus de deux processus (conventionnel et in-situ)…….. **70**

Tableau IV.3. Caractéristiques physico-chimiques des biodiesels synthétisés…….. **72**

Tableau IV.4 : Localisation et attribution des différentes bandes d'absorption infrarouge de l'huile d'olive…… **89**

Tableau IV.5. Surface des bandes d'absorption FT-IR d'HGO et de son biodiesel…... **92**

Introduction générale

Introduction générale

La progression démographique alarmante ainsi que le changement dans le style de vie ont poussé les industriels vers plus de production pour satisfaire la demande en produits alimentaires. Cette croissance rapide dans le mode de consommation a entrainé plus de rejets et de grandes quantités de déchets qui sont difficiles à gérer, et, qui dans la plus part des temps, sont accumulés dans les décharges [1]. Cependant, les déchets générés contiennent une proportion importante de matières biodégradables organiques très abondantes et bon marché. Ainsi, l'absence de stratégies pour la gestion adaptée des différents déchets et rejets agricoles, a contribué à l'augmentation du taux de pollution de l'environnement et par conséquent, à une augmentation incontrôlable des émissions de CO_2 qui sont responsables en grande partie du réchauffement climatique. Une étude de la Commission Européenne estime qu'une tonne de déchets alimentaires émet environ 2 tonnes de CO_2 [2]. Parallèlement à cette dégradation environnementale, les ressources d'origine pétrochimique (ressources par définition limitées) constituent la principale source d'énergie actuelle qui répondent à plus de 80% des exigences énergétiques dans le monde [3]. Le secteur des transports est le plus grand consommateur de cette énergie fossile non renouvelable et affiche une augmentation moyenne de 1,1% par an [4]. L'utilisation continue et massive des carburants fossiles accroit le réchauffement climatique à cause des accumulations et des émissions des gaz à effet de serre (GES), à l'instar du dioxyde de carbone [5].

Selon le groupe d'experts intergouvernementaux sur l'évolution du climat (GIEC), la prévention contre les conséquences catastrophiques des changements climatiques nécessite la stabilisation de la concentration atmosphérique du dioxyde de carbone. Ainsi, la transition vers les énergies renouvelables (ER) est le seul chemin à suivre pour faire face aux enjeux environnementaux et climatiques, et aussi à l'épuisement des carburants fossiles. Comme alternative à cette situation, la solution consiste à utiliser directement la biomasse végétale comme source d'énergie et de produits à haute valeur ajoutée (biocarburant, substances bioactives…), dans une logique de développement durable, sans attendre sa fossilisation géologique en hydrocarbures.

En effet, les déchets et les sous-produits agro-alimentaires contiennent une part importante de matières organiques hautement valorisable assimilées à la biomasse. Au niveau mondial, cette biomasse est produite en amont de la consommation et lors de la transformation industrielle des aliments à tous les stades de production, de la récolte jusqu'au produit final. La connaissance de la composition de la biomasse provenant des déchets et des sous-produits agro-

alimentaires implique la compréhension des méthodes de valorisation et des technologies qui y sont associées.

L'extraction de l'huile d'olive dans les huileries algériennes génère annuellement d'énormes quantités de grignons d'olive. Ces derniers sont toxiques et sont souvent stockés et rejetés dans la nature. Les grignons d'olives sont une biomasse végétale ligno-cellulosique très riche en huile résiduelle. La biomasse des grignons d'olive est citée comme une source énergétique renouvelable disponible pour la production d'énergie suivant différents procédés [7], pouvant représenter ainsi des avantages à la fois environnementaux et économiques, mais elle est moins valorisée et mal considérée en Algérie.

C'est dans ce contexte que ce travail se situe. On s'est intéressé essentiellement aux sous-produits de l'industrie oléicole (grignons d'olive) et les pellicules d'aubergine dont l'objectif principale est de mettre l'accent sur l'opportunité de valoriser les grignons d'olive et les pellicules d'aubergine pour produire des vecteurs énergétiques et des substances bioactives qui peuvent remplacer le carburant fossile en proposant un carburant vert pour les véhicules, et les produits équivalents issus de synthèses chimiques aux effets toxiques.

Le manuscrit s'articule en quatre chapitres :

- Les chapitres I et II représentent une synthèse bibliographique sur les biocarburants et les composés phénoliques. Elle présentera brièvement les biocarburants en mettant l'accent sur le biodiesel et les principales matières premières oléagineuses utilisées pour le produire, en particulier la biomasse grasse des grignons d'olive. Puis, elle s'attachera à décrire un aperçu sur les composés phénoliques des aubergines (pellicules/pulpes) et les différentes méthodes d'extraction et caractérisation de ces composés bioactives.
- Le chapitre III s'attachera à présenter les matériels et les méthodes utilisées dans notre travail, les appareils de caractérisation et d'analyse.
- Le chapitre IV exposera les résultats relatifs à la synthèse des biodiesels obtenus et à l'extraction des composés phénoliques et leur éventuelle caractérisation.

A la fin de cette thèse, on présente une conclusion générale en mettant en évidence les principaux résultats de cette étude et les perspectives associées.

"L'Homme ne trouvera jamais une invention plus belle, plus simple ou plus directe que la nature, car dans ses inventions, rien ne manque et rien n'est excessif"

Léonard de Vinci

Synthèse bibliographique

Chapitre I

BIOCARBURANTS



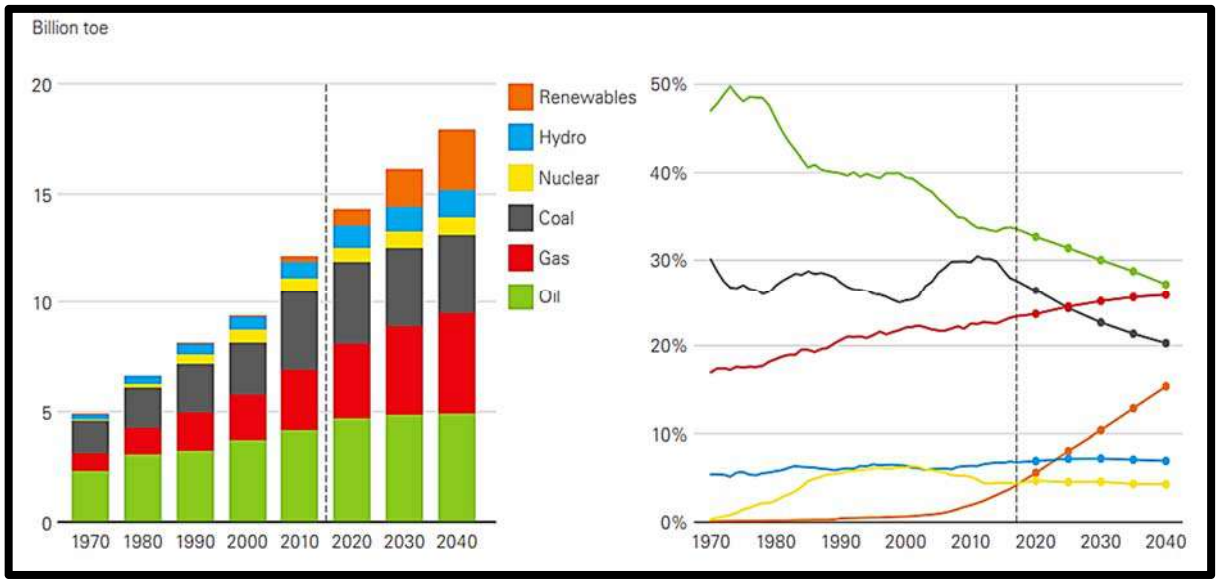




I.1. Introduction

La demande mondiale d'énergie primaire a connu une croissance exponentielle ces dernières années. Nombreux sont les scientifiques qui admettent que l'évolution récente démographique et le développement souhaitable et nécessaire de l'ensemble des pays du monde contribuent significativement à cette demande [8].

La compagnie pétrolière britannique (British Petroleum BP) délivre des données détaillées sur l'énergie dans le monde. La Figure I.1-a montre que les besoins énergétiques sont satisfaits presque entièrement par l'usage des énergies d'origine fossile (pétrole, charbon, gaz naturel) qui couvrent 78,4 % de la consommation d'énergie globale [9].



(a) Consommation d'énergie primaire (b) Évolution des sources d'énergie primaire

Figure I.1. Énergie dans le monde (Source: BP Energy Outlook, édition 2019).

Le transport routier étant le premier en termes de consommation des produits pétroliers et qui est l'un des principaux moteurs de l'augmentation de la demande d'énergie mondiale dans le futur [10]. Les énergies fossiles sont aujourd'hui à la base de nombreuses préoccupations à l'échelle mondiale.

Tout d'abord, le problème majeur lié à ces ressources est leur raréfaction. En effet, l'utilisation continue et croissante du pétrole comme source d'énergie intensifie la pollution de l'air et accroit le réchauffement climatique. La forte aggravation de l'effet de serre dont les émissions de CO_2, issues de la combustion des hydrocarbures d'origine fossile, sont les principales causes. C'est le secteur des transports routier qui est le plus générateur de ces émissions [11]. L'émission de gaz à effet de serre, est l'une des raisons pour la recherche d'une source d'énergie plus propre et alternative aux carburants fossiles

Selon les prévisions entre 2019 et 2040 de la compagnie pétrolière britannique (BP) (Figure I.1 b), toutes les données montrent clairement que l'ensemble de l'économie mondiale va évoluer dans un contexte de raréfaction des matières premières énergétiques fossiles, telles que le pétrole. Parallèlement, il apparaît un rôle croissant des énergies renouvelables. Parmi celles-ci, les biomasses vont jouer un rôle important, avec le plus grand potentiel de croissance au future [12].

Les réserves ultimes, et en particulier le pétrole, tendent à disparaître avec le temps alors que la demande en carburant est présente et ne cesse d'augmenter. La biomasse résiduelle, en particulier les déchets de l'industrie agro-alimentaire, sont considérés comme une alternative potentielle pour la production de carburants d'origine agricole et remplacer le pétrole sur les véhicules.

I.2. Biocarburants

Les biocarburants couvrent l'ensemble des carburants liquides (bioéthanol et biodiesel), solides (bio-charbon) ou gazeux (biogaz, gaz de synthèse et bio-hydrogène) issus de la transformation des matériaux organiques non-fossiles provenant de la biomasse [13]. Une ressource renouvelable est définie comme étant la fraction biodégradable des produits, des déchets et des résidus d'origine biologique provenant de l'agriculture (y compris les substances végétales et animales), de la sylviculture et des industries connexes (y compris la pêche et l'aquaculture), ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et municipaux [14].

Les biocarburants ont l'avantage d'être des sources renouvelables d'énergie propre, qui constituent une alternative soutenable et durable aux carburants pétroliers d'origine fossile, favorisant ainsi l'indépendance énergétique de nombreux pays [15]. D'un point de vue environnemental, le développement des filières de production de biocarburants permet, de réduire le taux d'émission de CO_2 et de lutter contre les gaz à effet de serre responsable du réchauffement climatique, et de ce fait, d'améliorer la qualité de l'air [16].

I.2.1. Production de biocarburants

La production des biocarburants peut se faire à partir de la biomasse à base de: **(1)** sucres et d'amidon, **(2)** d'huiles et de lipides, **(3)** de gomme et de bois (dérivés forestiers) et de cellulose [17]. La Figure I.2 présente les différentes voies de production des biocarburants à partir de la biomasse.

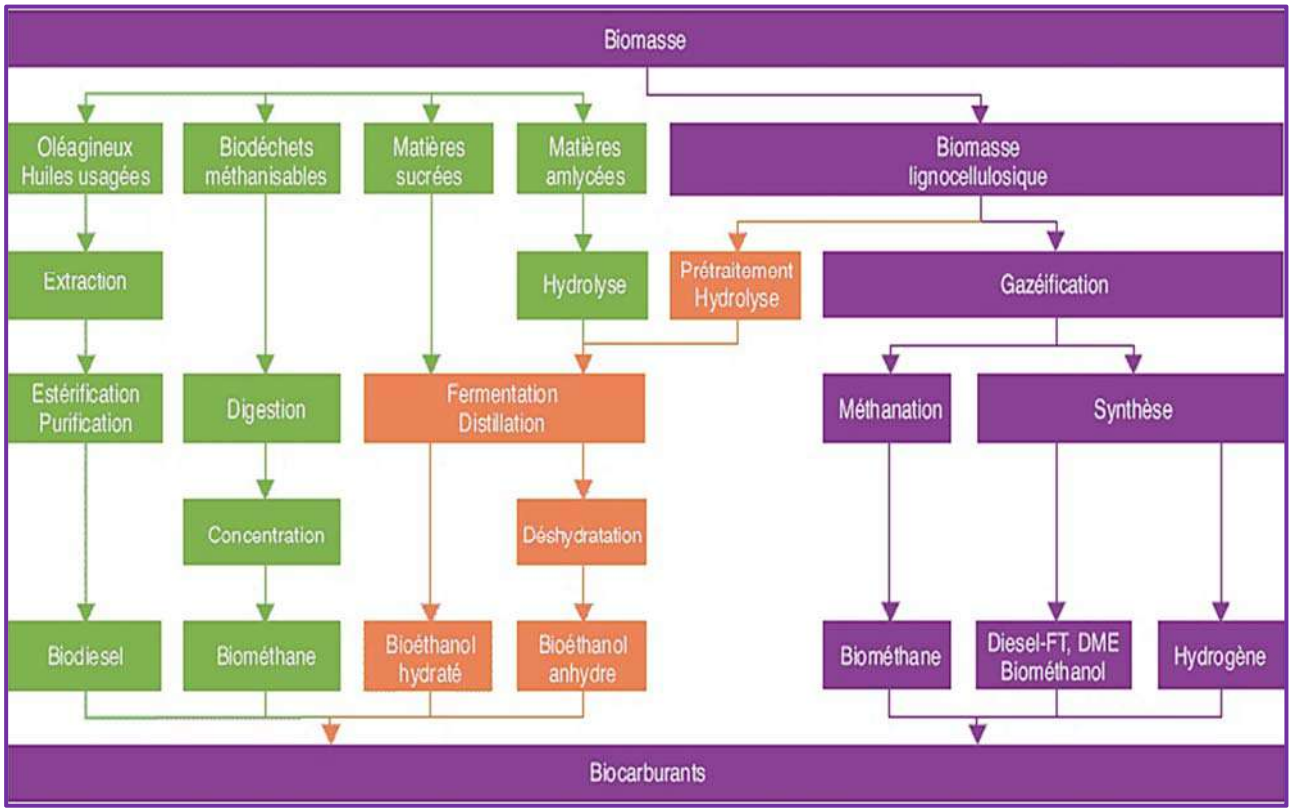


Figure I.2. Diagramme de production des biocarburants de la biomasse (adapté de http://biotech.spip.ac-rouen.fr).

I.2.2. Différentes générations de biocarburants

Trois générations de biocarburants sont distinguées [18]: **(i)** les biocarburants de première génération: il s'agit de carburants produits à partir de cultures alimentation, plus spécifiquement les organes de réserves des plantes oléifères et sucrières ou encore les céréales. Ils constituent la quasi-totalité des biocarburants disponibles sur le marché. De ce fait, cette génération de biocarburants entre en concurrence directe avec la filière alimentaire et peut accentuer la crise alimentaire; **(ii)** les biocarburants de deuxième génération: le substrat de départ pour leur production est la biomasse dédiée au non-alimentaire, en majorité la biomasse lignocellulosique (bois et paille, sous-produits des industries agro-alimentaires, déchets agricoles et forestiers,…). Ces ressources représentent à l'échelle mondiale une source d'énergie renouvelable disponible en grandes quantités et peu onéreuse. La biomasse lignocellulosique permet une valorisation de la totalité de la biomasse et ne rentre pas en compétition avec l'alimentaire; **(iii)** les biocarburants de troisième génération sont obtenus à partir d'algues dont la productivité peut être théoriquement de 10 à 20 fois plus élevée que les oléagineux terrestres comme le colza ou le tournesol.

Dans cette étude, on se focalise sur la ressource "biomasse non-valorisée par l'industrie agro-alimentaire" afin de produire un biocarburant de deuxième génération.

I.3. Biomasse résiduelle issue de l'industrie oléicole

L'extraction d'huile d'olive est une activité agro-industrielle qui représente une grande importance économique et sociale dans les pays méditerranéens, générant environ 98% de la production mondiale [19]. Selon les chiffres du marché mondial des huiles d'olive publiés par le Conseil Oléicole International (COI, 2018), l'Algérie est classée comme le troisième pays producteur d'huile d'olive d'Afrique du Nord avec une production d'environ 80,000 tonnes d'huile d'olive.

I.3.1. Extraction de l'huile d'olive

L'oléiculture Algérienne est caractérisée par une large gamme de variétés (pour l'extraction d'huile d'olive ou pour l'olive de table). La Rougette, Chemlal, Azeradj, Bouchouk, Blanquette et Limli sont les variétés d'olives destinées à la transformation pour la production d'huile (ITAFV, 2006).

Après la récolte des olives et avant d'initier le cycle de leur transformation en huile de qualité, les olives sont soumises à des opérations d'effeuillage et de lavage. Ces opérations sont importantes pour éliminer les feuilles, les branches et les brindilles, ainsi que pour le retrait de toutes les substances étrangères solides (terre, poussière, pierres,…).

L'extraction de l'huile d'olive comprend généralement trois étapes opérationnelles: **(1)** le broyage des olives, où les parois des cellules de la pulpe renfermant l'huile sont brisées et laissent libérer l'huile qu'elles contiennent; **(2)** malaxage, qui sert à mélanger lentement la pâte d'olive obtenue pour la rendre onctueuse et homogène, en augmentant le rendement en huile; et **(3)** l'extraction ou la séparation des phases (liquide/solide), qui constitue le stade fondamental de l'ensemble du processus. Cette dernière étape pourrait être réalisée selon l'un des procédés suivants: système discontinu par pressage (traditionnelle), système continu par centrifugation à deux phases ou à trois phases (Figure I.3) [20].

Les systèmes d'extraction de l'huile d'olive varient non seulement dans la différence des forces physiques nécessaires pour séparer l'huile, mais aussi dans la quantité d'eau utilisée [21]. Pendant le processus d'extraction, il y a un peu ou pas d'ajout d'eau au milieu d'extraction, ce qui minimise à la fois la consommation d'eau et la production de déchets liquides polluants [22].

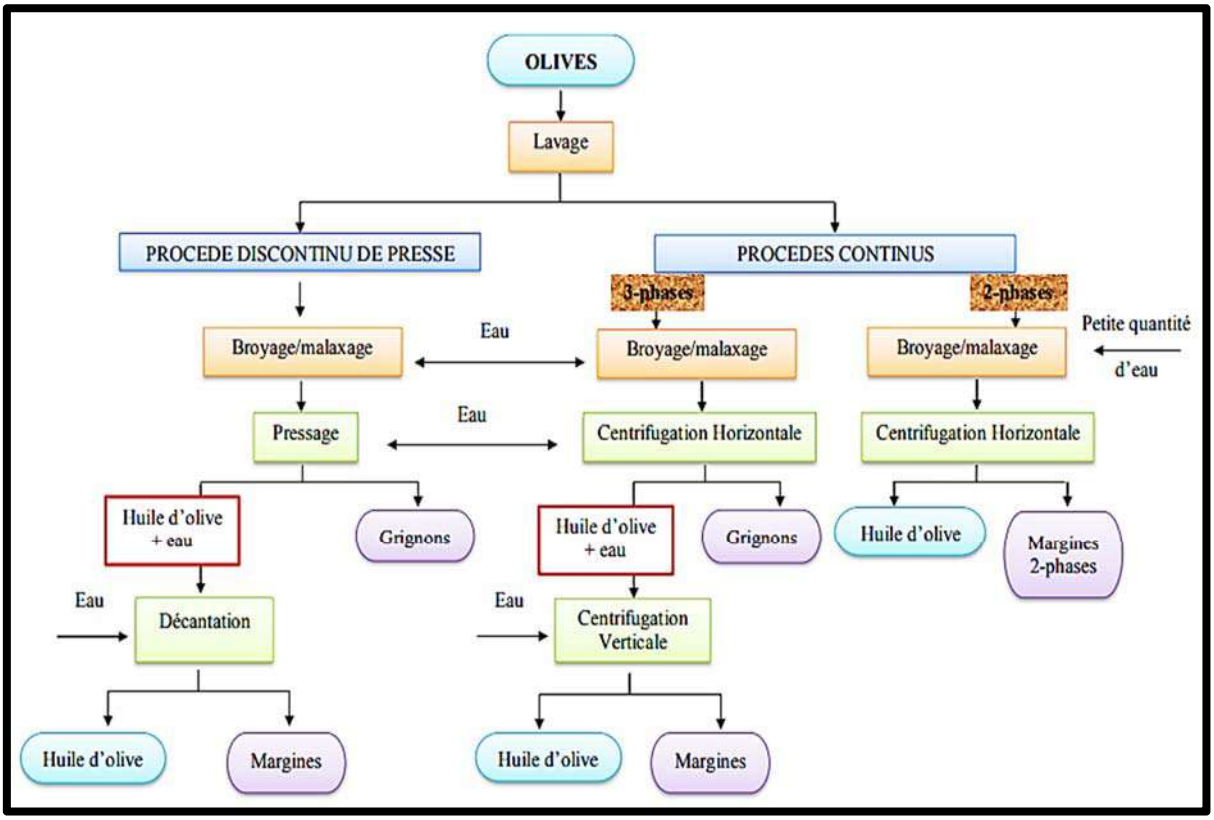


Figure I.3. Principaux procédés d'extraction de l'huile d'olive [20].

I.3.2. Sous-produits oléicoles

Les sous-produits provenant de l'extraction d'huile d'olive sont généralement connus comme sous-produits de l'olive [23]. Les deux systèmes, pressage ou centrifugation, génèrent de nombreux déchets et sous-produits avec des caractéristiques différentes ; les plus importants sont le bois (branches ou brindilles), les feuilles, les grignons d'olive, et les margines (eaux de végétation) [24].

Selon différents auteurs, un hectare d'olivier produit environ 2500 kg d'olives, étant estimé que pour 100 kg d'olives traitées, 35 kg de déchets solides (grignons d'olives) et 55 à 200L de déchets liquides sont produits, selon le processus d'extraction. Les feuilles représentent environ 5 % du poids des olives [25].

I.4. Biomasse des grignons d'olive

Le grignon d'olive (Figure I.4) est une biomasse ligno-cellulosique ; c'est un résidu solide récupéré à la suite de la première pression ou centrifugation lors de l'extraction d'huile des olives entières broyées. Il est constitué par un agrégat de pulpes, de pellicules du fruit, de

coques, de noyaux fragmentés, de l'eau et contenant encore une quantité d'huile d'olive résiduelle [26].



Figure I.4. Biomasse du grignon d'olive

(adapté du site https://www.scoop.it/t/biomasse-energie-bois-energie-france).

I.4.1. Composition chimique

Selon la variété d'olive et les méthodes d'extraction, le grignon d'olive a une composition variable [26]. La teneur du grignon d'olive en humidité est comprise entre 22 à 25% dans les grignons d'olive pressés et entre 40 et 45% dans les systèmes à trois phases, par contre, les systèmes à deux phases laissent un grignon beaucoup plus humide dont le taux d'humidité se situe entre 65 et 75% [20], un pH légèrement acide et une teneur très élevée en matières organiques (lignine, hémicellulose et cellulose). En outre, il contient des protéines et des (lipides, glucides et substances phénoliques) solubles dans l'eau, et il est riche en potassium et pauvre en phosphore et en micronutriments [27].

La teneur en huile est autour de 4 à 15 g/100 g de matière sèche selon la qualité des grignons d'olive et la méthode d'extraction [28].

I.4.2. Valorisation des grignons d'olive

Actuellement, plus d'une centaine de milliers de tonnes de grignons d'olives sont déversés dans la nature, engendrant des problèmes environnementaux inquiétants dans la plupart des pays oléicoles. Pour préserver l'environnement d'une part et contribuer à l'amélioration de la rentabilité du secteur oléicole d'autre part, la valorisation de ce sous-produit fait sentir son importance.

D'après chouchen [29], les filières de valorisation des grignons d'olives sont nombreuses (Figure I.5).

- Les grignons d'olives peuvent être fermentés par des champignons pour produire de composés d'arômes d'intérêt dans différents domaines (agroalimentaire, cosmétique et

pharmaceutique). Dans le domaine agricole, les grignons d'olives peuvent être employés comme amendements organiques et fertilisant des sols

- Les grignons épuisés à l'hexane constituent une matière première pour la production du furfural, méthanol pour les industries des plastiques. Mieux encore, ces sous-produits de l'industrie oléicole peuvent être transformés en un produit destiné à l'alimentation animale utilisé en tant qu'aliment pour bétail.
- La valorisation énergétique des grignons d'olives constitue l'alternative la plus pertinente pour la réduction de ces sous-produits oléicoles. En effet, des procédés de conversion transforment ces grignons en énergie utilisable sous différentes formes.
- D'autres filières de valorisation des grignons d'olives sont la production du charbon actif et l'utilisation comme biosorbant de certains polluants indésirables qui contaminent les rejets industriels.

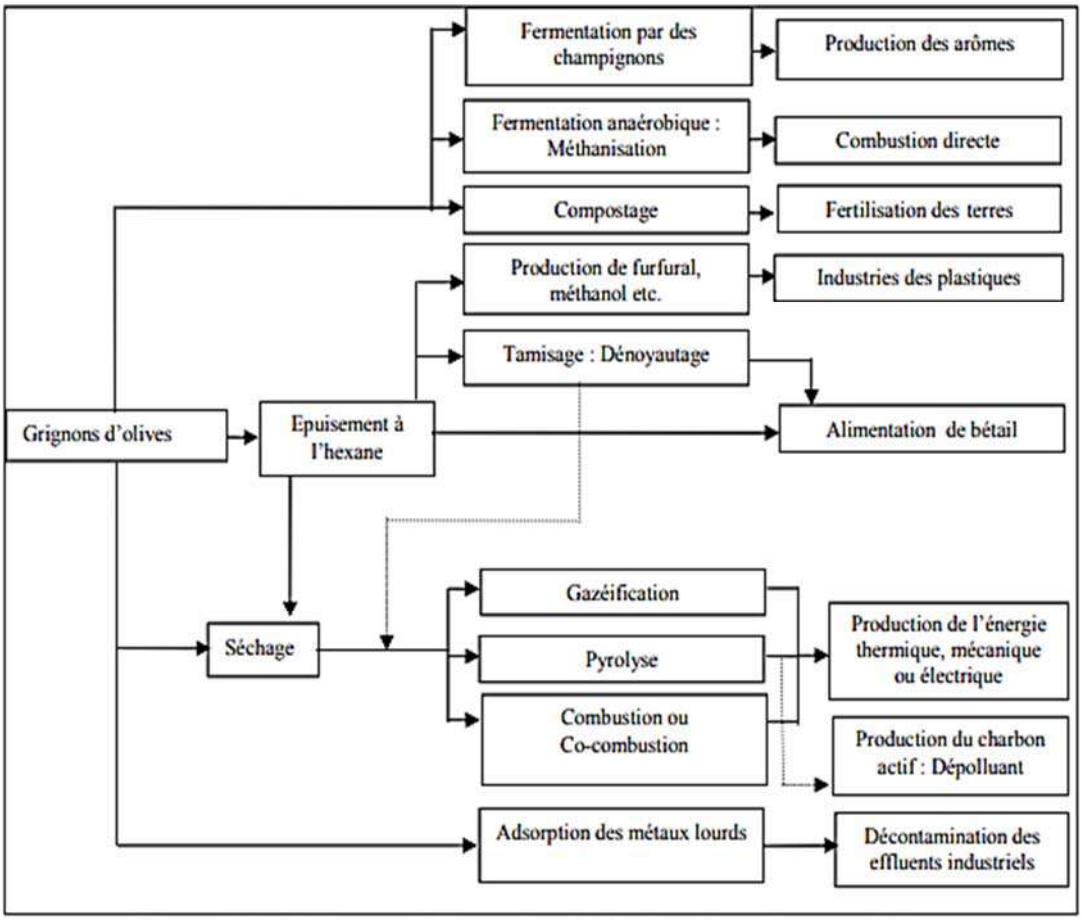


Figure I.5. Possibilités de valorisation des grignons d'olives [29].

L'intérêt économique de la biomasse des grignons d'olive est principalement dû à son huile résiduelle [30]. Les grignons d'olive peuvent être utilisés comme substrats pour la production de biocarburant, après avoir subi une extraction chimique de son huile [31].

Les biocarburants liquides occupent une place significative. Ils font partie de deux grandes filières, soit les substituts à l'essence (la filière bioéthanol) et les substituts au carburant diesel (la filière de biodiesel). Ils sont les plus développées industriellement à l'heure actuelle [15]. La filière du biodiesel en particulier va être détaillée dans ce qui suit.

I.5. Biodiesel

Le biodiesel est de loin le biocarburant le plus utilisé dans le monde comme carburant automobile dont le procédé de production et de distribution est plus facile à mettre en œuvre. Les propriétés physico-chimiques de ce biocarburant étant presque identiques à celles du gazole [9] et son utilisation directe ne nécessite aucune modification ou adaptation du moteur en font le substitut privilégié des carburants fossiles [32].

I.5.1. Principales sources de matières premières pour la production du biodiesel

Les lipides (huiles/graisses) représentent le principal intrant dans la production du biodiesel obtenus majoritairement par extraction mécanique ou par extraction au solvant. Le biodiesel est produit à partir d'huiles végétales provenant d'une très large gamme de plantes oléagineuses (soja, colza, palme, tournesol....), de graisses animales, d'huiles usagées, d'huiles à base de micro-algues ou d'huiles extraites de déchets graisseux [33].

I.5.2. Production de biodiesel

Selon la littérature, les huiles végétales se révèlent de bons carburants pour les moteurs diésels. Cependant, ces huiles ne sont pas utilisées telles quelles car leurs propriétés ne permettent pas un bon fonctionnement des moteurs diesel (viscosité et acidité trop élevées).

En effet, la haute viscosité des huiles végétales engendre une faible atomisation et pulvérisation du jet de carburant et une formation de dépôts de carbone dans le cylindre allant jusqu'à l'obstruction des injecteurs, traduisant par des performances dégradées du moteur [34]. Afin de réduire leur viscosité, l'adaptation des huiles végétales est donc indispensable pour rapprocher leurs caractéristiques à celles d'un gasoil conventionnel et éviter les problèmes liés à leur utilisation.

Plusieurs procédés d'adaptation des huiles végétale ont vu le jour. Parmi les plus importants, on note la dilution, la microémulsion et la trans-estérification [35].

I.5.2.1. Dilution

Les huiles végétales brutes peuvent être utilisées comme carburant diesel alternatif quand elles sont diluées dans le diesel conventionnel. Cette méthode ne nécessite aucun traitement chimique [36]. Certes la dilution permet de réduire la viscosité de l'huile et d'améliorer les performances et le fonctionnement du moteur [34] mais cela n'est possible qu'à une certaine

teneur de l'huile inférieure à 30% dans le diesel. Des mélanges de 20 à 25% d'huiles végétales et de gasoil ont donné des résultats satisfaisants pour une utilisation optimale dans les moteurs diésel [37].

I.5.2.2. Microémulsions

Une autre approche pour réduire la viscosité de l'huile et permettre son utilisation directe dans les moteurs diesel est celle par micro-émulsification. Celle-ci est la formation de microémulsions qui peuvent être constituées d'huile végétale avec un ester et un dispersant (co-solvant), ou d'huile végétale avec un alcool (méthanol, éthanol ou le 1-butanol) et un surfactant [34]. Les microémulsions ont des dimensions comprises généralement dans la gamme de 1 à 150 nm [35]. La micro-émulsification des huiles végétales, phase ternaire, ont montré une nette amélioration des caractéristiques de pulvérisation du carburant [38].

I.5.2.3. Trans-estérification

Il existe un autre moyen d'adapter une huile végétale pour qu'elle puisse être utilisée dans un moteur diesel conventionnel non modifié, est de changer sa composition chimique et de la convertir en ester. Cette réaction de conversion appelée trans-estérification est largement utilisée pour réduire la viscosité des huiles végétales [39].

I.6. Procédé de trans-estérification

I.6.1. Trans-estérification classique

La trans-estérification nommée aussi alcoolyse, est une réaction chimique entre les triglycérides du corps gras (huiles/graisses) et un alcool (éthanol/méthanol) en présence d'un catalyseur pour former du glycérol et des esters alkyles (méthylique ou éthylique) d'acides gras communément appelé biodiesel [9] (Figure I.6).

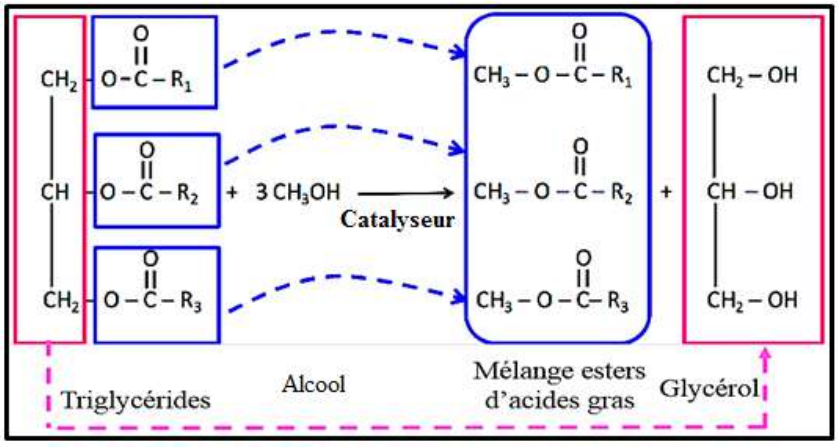


Figure I.6. Réaction de transestérification des triglycérides avec l'alcool [27].

La libération du glycérol (GL) n'est effective qu'après plusieurs réactions consécutives et réversibles de transestérification [40]. En effet, comme démontré par le schéma réactionnel de trans-estérification ci-dessous (Figure I.7), les triglycérides (TG) se transforment en diglycérides (DG), puis en monoglycérides (MG) qui sont finalement transformés en glycérol dans lesquels une molécule d'ester alkyle est formée à chaque étape [41].

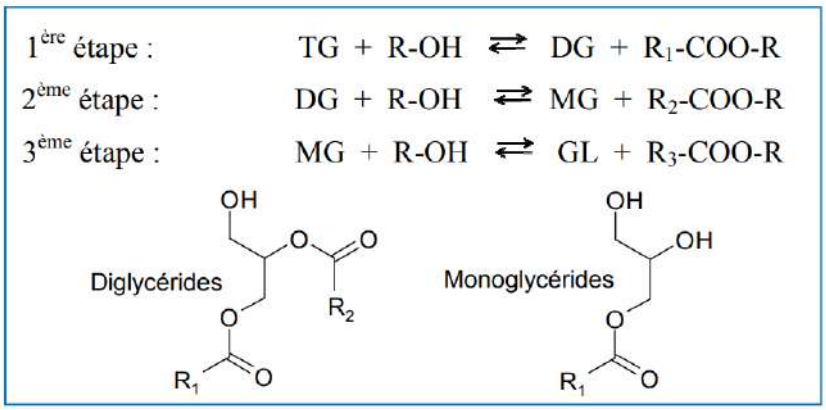


Figure I.7. Les trois étapes successives et réversibles de la réaction de transestérification [41]

Le déroulement du processus réactionnel est influencé par plusieurs paramètres, à savoir la nature du catalyseur, le type d'alcool, le rapport molaire alcool/triglycérides, la température, la présence d'acides libres et d'eau, la vitesse d'agitation et enfin, le temps de la réaction [42].

Les acides gras libres et l'eau sont des paramètres clés dans le processus de trans-estérification. L'humidité et l'acidité de la matière grasse est un facteur limitant de la réaction de trans-estérification à catalyse basique et peut même l'arrêter [43]. En effet, en présence d'eau les triglycérides s'hydrolysent facilement donnant lieu au glycérol et aux acides gras libres (AGL). Avec l'augmentation de l'un des deux paramètres les savons de ces acides se forment (réaction de saponification) et le rendement de la réaction diminue [44].

La teneur en acides gras libres dépasse un seuil donné peut conduire à des problèmes de corrosion dans le circuit d'alimentation et d'injection des moteurs diesel [45]. Des études ont restreint la faisabilité de la catalyse basique sur les huiles ayant une faible acidité de 1% (équivalente à 2 mg $_{KOH}$/g $_{huile}$) [46], de 2 % [47] et même de 4,5% [48]. Lorsque la teneur en AGL dans la matière grasse dépasse ces seuils, une trans-estérification en deux étapes, une pré-estérification par un acide est conseillée afin de réduire son acidité avant de passer à la transestérification de la matière grasse traitée à catalyse basique [49].

I.6.2. Trans-estérification in-situ

Le procédé de trans-estérification in-situ est la méthode de production du biodiésel en une seule étape utilisant directement la biomasse oléagineuse broyée comme matière première, les étapes d'extractions et de trans-estérification se faisant simultanément [50].

I.6.3 Comparaison entre la trans-esterification in situ et classique

La production classique de biodiesel nécessite l'utilisation des huiles d'une certaine qualité. Comme le montre la Figure I.8, la production de biodiesel commence par le broyage de la matière première suivi d'une extraction de son huile à l'aide d'un solvant. L'extraction d'huile est une étape clé de ce procédé conventionnel. La purification de l'huile extraite est requise pour une réaction de trans-estérification optimale. Le processus d'extraction et de raffinage de l'huile constitue à lui seul 70% du coût total de la production du biodiesel [51].

Cependant, le procédé in-situ utilise la biomasse broyée en fine poudre comme substrat lipidique [52]. Les fragments de la biomasse réagissent avec l'alcool et le co-solvant en présence de catalyseur, produisant des esters alkyliques d'acides gras [53]. La trans-estérification in situ permet donc de s'affranchir à la fois l'extraction et la purification de l'huile.

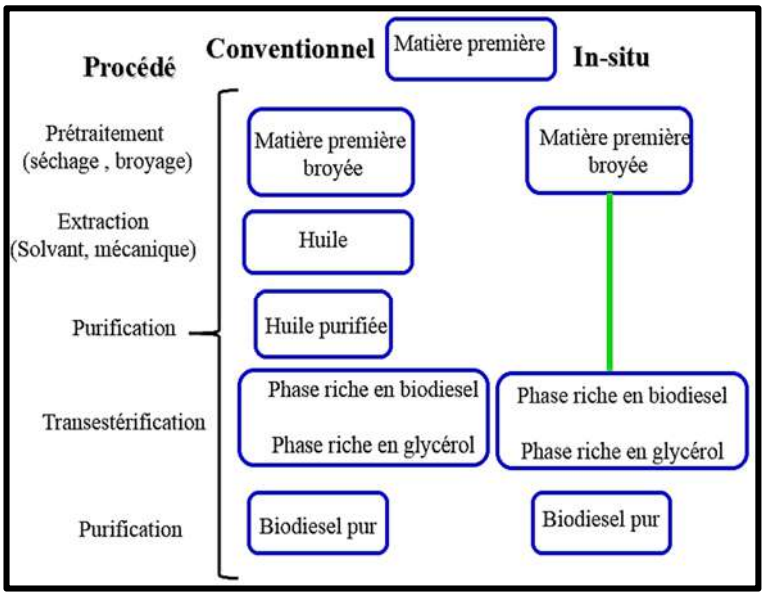


Figure I.8. Trans-estérification conventionnelle et trans-estérification in-situ [52].

Une fois la réaction de trans-estérification terminée, on procède à la purification du biodiesel qui commence par la filtration du milieu réactionnel pour éliminer toute trace de particules. La décantation du produit est nécessaire pour séparer le biodiesel du glycérol. La phase de biodiesel récupérée est lavée à l'eau pour débarrasser les impuretés (la glycérine résiduelle, l'excès d'alcool et les traces de catalyseurs). L'étape de purification se termine par le séchage du biodiesel lavé afin d'éliminer l'eau présente [54].

La trans-estérification in situ apparait plus simple et facile à mettre en œuvre par rapport à la réaction de trans-estérification classique, parce qu'elle se fait en un nombre d'étapes très limité et n'utilise que très peu d'intrants. Elle permet de réduire la durée et les coûts opérationnels du processus [52].

I.7. Propriétés et qualités du biodiesel

Le biodiesel est produit à partir de plantes de différentes origines, propriétés et qualités ; il est nécessaire d'avoir donc des normes spécifiques sur la qualité du biodiesel qui doivent être respectées dans chaque pays pour assurer la performance du moteur sans aucune difficulté [55].

La qualité du biodiesel est caractérisée par des propriétés physico-chimiques qui doivent être conformes aux spécifications, comme les normes internationales Américaines (ASTM 6751-3) ou les normes Européennes (EN 14 214) [56].

Parmi ces propriétés, on a la viscosité cinématique (mm^2/s), la densité (kg/m^3), le point éclair (°C), le point de trouble (°C), le point d'écoulement (°C), l'indice de cétane, l'indice d'acide (mg KOH/g-huile). Les propriétés chimiques et physiques du biodiesel dépendent du type de matière première et de leur composition en acides gras [57].

I.7.1. Viscosité

La viscosité est la propriété la plus importante de tout carburant, et pour cette raison, elle a été largement étudiée [58]. La viscosité du carburant décrit sa capacité à s'écouler, elle est fortement dépendante de la température [59]. Cette caractéristique affecte les performances du moteur, et la qualité de pulvérisation du carburant en particulier aux basses températures car l'augmentation de la viscosité affecte la fluidité du carburant [60].

Lorsque la viscosité augmente, le carburant injecté dans la chambre de combustion a tendance à former de plus grosses gouttelettes lorsqu'il est pulvérisé. La pulvérisation du carburant en gouttelettes de grande taille se traduit par une mauvaise pulvérisation [61]. Cela conduit à une mauvaise volatilité du carburant ce qui provoque une combustion incomplète et des émissions polluantes plus élevées [61]. De plus, la cristallisation à basse température et la gélification qui en résulte entraînent un colmatage des filtres et limite la pénétration du jet de carburant dans le moteur et conduit aux mêmes effets qu'une viscosité élevée [62].

I.7.2. Densité

La densité d'un carburant correspond à sa masse contenue dans un volume bien déterminé dans des conditions de pression et de température fixées [59]. Elle doit être mesurée à la température de référence de 15 ou 20°C.

La densité d'un carburant a un effet important sur les performances du moteur et un effet direct sur la masse de carburant injecté et sur la qualité de l'atomisation. Un carburant ayant une densité élevée conduit à une masse de carburant injecté plus importante et augmente la consommation.

I.7.3. Indice de cétane

L'indice de cétane est l'un des principaux indicateurs de la qualité du carburant. Il affecte un certain nombre de paramètres de performance du moteur comme la combustion, les émissions polluantes et le bruit.

L'indice de cétane caractérise le délai d'auto-inflammation du carburant au moment de son injection dans la chambre de combustion et la qualité de combustion dans les moteurs diesel [63]. Plus le délai d'auto inflammation est court, plus l'indice de cétane est élevé et vice versa.

Un faible indice de cétane provoque un problème de démarrage, une augmentation du délai d'auto inflammation et un ralentissement de la combustion [64]. Cela augmente les émissions polluantes dans le moteur (hydrocarbures imbrûlés, oxydes d'azote, monoxyde de carbone, etc.) dues à une combustion incomplète, et le niveau du bruit est ainsi augmenté [63].

I.7.4. Indice d'acidité

L'indice d'acidité est une mesure des acides gras libres contenus dans un carburant. Les acides gras libres (AGL) se trouvent naturellement dans les graisses et les huiles, mais qui ne sont pas attachés aux squelettes de glycérol [59]. Une quantité plus élevée en acides gras libres conduit à un indice d'acide plus élevée. L'effet d'une teneur en acide plus élevée cause une corrosion des pièces du moteur, en particulier le système d'injection [65].

I.7.5. Point d'éclair

Le point d'éclair d'un carburant liquide également appelé point de flash se définit comme la température la plus basse à laquelle la concentration de vapeurs émises est suffisante pour former, avec l'air ambiant, un mélange gazeux qui s'enflamme (étincelle) sous l'effet d'une flamme étrangère [66]. En d'autres termes, c'est un indice de la présence de matières volatiles et inflammables dans le carburant. Le point d'éclair du carburant varie inversement avec sa volatilité [61]. Le point d'éclair du biodiesel est supérieur à la limite prescrite pour le pétro-diésel, qui est sécuritaire lors des opérations de transport, de transfert et de stockage [57].

I.7.6. Propriétés d'écoulement à froid

Le comportement du biodiesel à basse température est un critère de qualité très important. Les propriétés d'écoulement à froid du biodiesel dépendent principalement de sa composition [67]. Le biodiesel commence à gélifier ou même devenir trop épais à basse température, surtout en hiver dans les régions froides, ce qui peut obstruer ou limiter l'écoulement à travers les filtres

[68]. La cristallisation ou l'épaississement du biodiésel causent des problèmes de démarrage perturbant ainsi le fonctionnement du moteur, principalement en raison de sa forte teneur en composants saturés [62].

En effet, la solidification partielle ou totale du carburant peut provoquer le colmatage des filtres et le blocage des conduites de carburant, entraînant des problèmes de démarrage, de conduite et des dommages au moteur en raison d'une lubrification inadéquate [59].

Les propriétés d'écoulement à froid peuvent être évaluées par le point trouble et le point d'écoulement:

- Le point trouble est la température à partir de laquelle un nuage de cristaux apparaît pour la première fois dans un carburant et devient visible lorsqu'il est refroidi dans des conditions normalisées [69].
- Le point d'écoulement est défini comme la température la plus basse à laquelle le carburant peut s'écouler [59].

I.8. Avantages et inconvénients du biodiesel

Le biodiesel est considéré comme un biocarburant prometteur pour le remplacement du diesel d'origine fossile puisqu'il est renouvelable, biodégradable et non toxique pour l'environnement et l'être humain que son homologue pétrolier. Le biodiesel possède d'excellentes propriétés lubrifiantes et donc peut contribuer à l'augmentation de la durée de vie du moteur [2,64].

La viscosité du biodiesel, de 7 à 11 fois plus basse que celle de l'huile d'origine, est un atout primordial puisqu'elle améliore sa pulvérisation et sa volatilité lors de l'injection au moteur et rend sa combustion plus complète. Son point d'éclair élevé rend sa manipulation moins dangereuse et plus sécurisée que le diesel, tandis que son indice de cétane plus élevé que celui du gasoil rend sa combustion plus rapide et moins bruyante.

En dehors des éléments qu'on vient de citer, l'application du biodiesel à nos moteurs diesel pour les activités quotidiennes est avantageuse pour son caractère plus respectueux de l'environnement que le diesel issu du pétrole : **(1)** le biodiesel ne contient que très peu de soufre (<10 ppm), ce qui participe à une moindre émission de SO_2; **(2)** la présence d'oxygène dans sa composition permet une combustion plus complète, favorisant ainsi la baisse des émissions de CO et HC; et **(3)** au niveau du cycle du carbone, la consommation de biodiesel produit à partir de cultures énergétiques constitue un cycle fermé (figure I.9) car durant sa croissance, la plante consomme par photosynthèse la même quantité de CO_2 que la combustion du carburant dégagera.

Le biodiésel présente, en plus de ces avantages, certains inconvénients tels que:

- Ses points de fusion, de trouble et d'écoulement élevés, qui rendent difficile son utilisation à l'état pur sur les véhicules en hiver et surtout dans les pays à climat froid. Il est possible de résoudre ce problème en l'utilisant comme mélange ou en le préchauffant avant son injection dans le moteur.
- La stabilité du biodiesel pendant le stockage à longue durée pose un problème, car les doubles et triples liaisons présentes dans les acides gras sont instables et ont tendance à s'oxyder ou à former des gommes. L'ajout des antioxydants, ou son utilisation directe après la production, permet de résoudre ce type de problème.

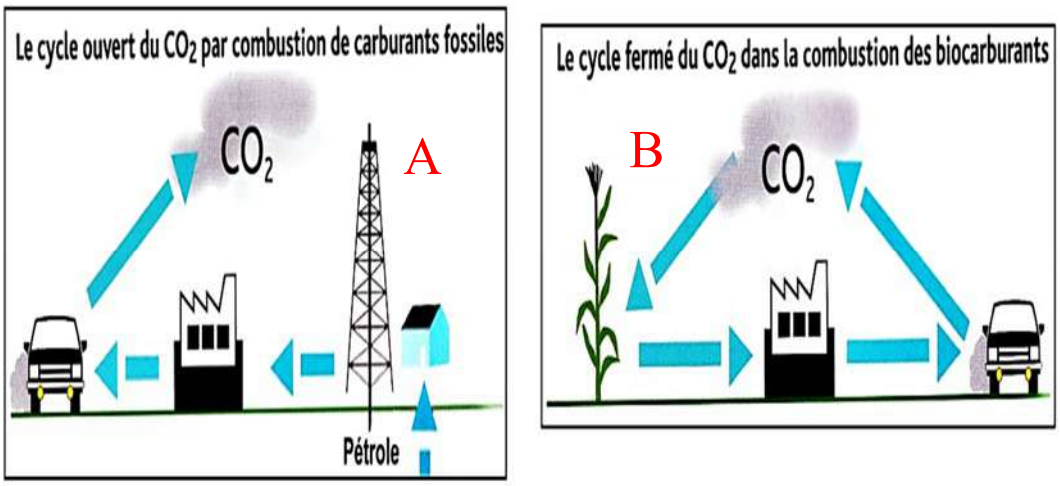


Figure I.9. Cycle carbone du pétrole (A) et du biocarburant (B)

Chapitre II

ANTIOXYDANTS PHÉNOLIQUES NATURELS



II.1. Introduction

Un élément nécessaire pour tous les organismes vivant en aérobiose, l'oxygène permet de produire de l'énergie indispensable au travail cellulaire. C'est au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale que s'effectue la réduction de l'oxygène en eau, impliquant la formation d'adénosine triphosphate (ATP) à haut potentiel énergétique [72]. Cependant, une réduction incomplète du dioxygène donne naissance à des espèces toxiques ayant des électrons non appariés (célibataires), appelées radicaux. Ces radicaux centrés sur l'oxygène sont reconnus par leur grande réactivité et font partie des espèces oxygénées réactives (EOR) libres [73]. La production de ces espèces pro-oxydantes est normale et s'accompagne d'un rôle physiologique important [74]. En outre, les EOR peuvent être produites par d'autres causes extérieures, notamment l'exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants comme le tabac, l'alcool, les médicaments, les rayons gamma, les rayons ultraviolets, les herbicides, l'ozone, l'amiante, les métaux toxiques [75].

Ces espèces oxygénées réactives, lorsqu'elles sont présentes en trop grande quantité dans l'organisme, sont susceptibles d'exercer des effets délétères sur les composés vitaux des cellules (glucides, lipides membranaires, protéines, et acides nucléiques), entraînant de profondes altérations et des dysfonctionnements cellulaires à l'origine de nombreuses pathologies (maladies cardiovasculaires, maladies neurodégénératives, cancers, diabète) [76].

L'organisme est pourvu de plusieurs moyens de défense antioxydants [77]. Ces molécules réductrices consomment directement les radicaux libres formés au cours de réactions d'oxydoréduction. Un déséquilibre entre la production excessive de molécules oxydantes et/ou une diminution du taux d'antioxydants dans l'organisme est défini par le terme de stress oxydant [78]. Une partie des composés antioxydants doit être apportée par l'alimentation afin de maintenir un équilibre et limiter le phénomène de stress oxydatif. Un grand nombre des antioxydants, tels que les vitamines E (tocophérol) et C (acide L-ascorbique), les provitamines A (β-carotène) et les composés phénoliques, proviennent des fruits (orange, raisin, fruits rouges,...) et des légumes (tomate, cresson, ail...) [79].

II.2. Antioxydants

Selon Gutteridge et Halliwell [80], un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration par rapport aux substrats oxydables, supprime ou empêche de façon significative l'oxydation de ceux-ci.

Les antioxydants présentent la capacité de piéger, neutraliser les formes actives de l'oxygène à caractère toxiques (radicaux libres) et les convertir en espèces non-toxiques due à leur aptitude

à céder un hydrogène ou électron et à délocaliser l'élection non-apparié sur l'ensemble du cycle aromatique [81], comme le montre la Figure II.1.

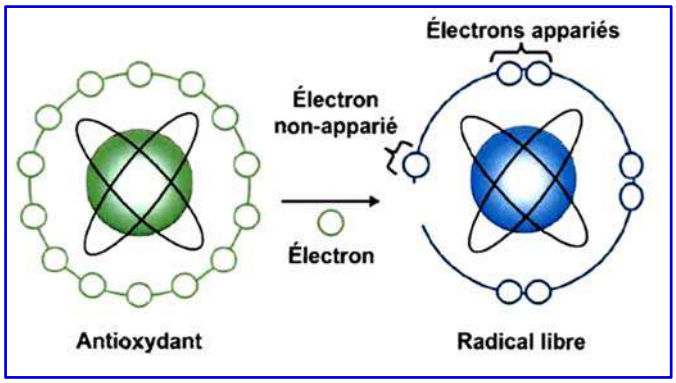


Figure II.1. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant [82].

Les composés phénoliques constituent une grande classe d'antioxydants naturels. Les antioxydants phénoliques sont des molécules très importantes car elles ont la capacité de prévenir les agressions des intermédiaires oxydants (EOR) [77,78].

II.3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques, ou polyphénols, sont des métabolites secondaires ubiquistes les plus largement distribués dans le règne végétal avec plus de 8,000 composés connus allant de simples acides phénoliques à de grands polymères complexes comme les tanins ou les lignines [85]. Elles forment un groupe de molécules organiques dotées de structures et de fonctions très diverses [86], mais ayant toutes en commun la présence d'au moins un cycle benzénique, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (-OH) [87] et se différencient par le nombre et l'enchaînement des noyaux aromatiques, le nombre et la position des groupes hydroxyles ainsi que la présence de substituants non phénoliques de nature diverse (groupes alkyles, sucres, acides organiques...) [88].

Les composés phénoliques sont connus pour leur rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes (différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation), dans la protection contre les radiations UV [89] et les agents pathogènes [90]. Mis à part leurs fonctions biologiques diversifiées, et notamment grâce à leur propriété antioxydante, les composés phénoliques manifestent un spectre des effets bénéfiques contre une large panoplie de maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer ou les maladies neurodégénératives et cardiovasculaires [76].

Les molécules phénoliques à propriétés multiples, chez les êtres humains et chez les végétaux, peuvent être également utilisées comme additifs, colorants [91], agents de saveur [92]

ou agents conservateurs naturels des denrées alimentaires [93], et être ainsi utilisées en cosmétique en tant qu'ingrédients naturels dans de nombreuses formulations cosmétiques pour la protection de la peau (crèmes écrans solaires) [94] et comme actifs anti-âge [95].

Les composés phénoliques sont communément scindés en deux principales catégories: les flavonoïdes et les non flavonoïdes [96]. La Figure II.2 représente ces différentes catégories, en précisant une des nombreuses sources de chaque sous-groupe avec un exemple.

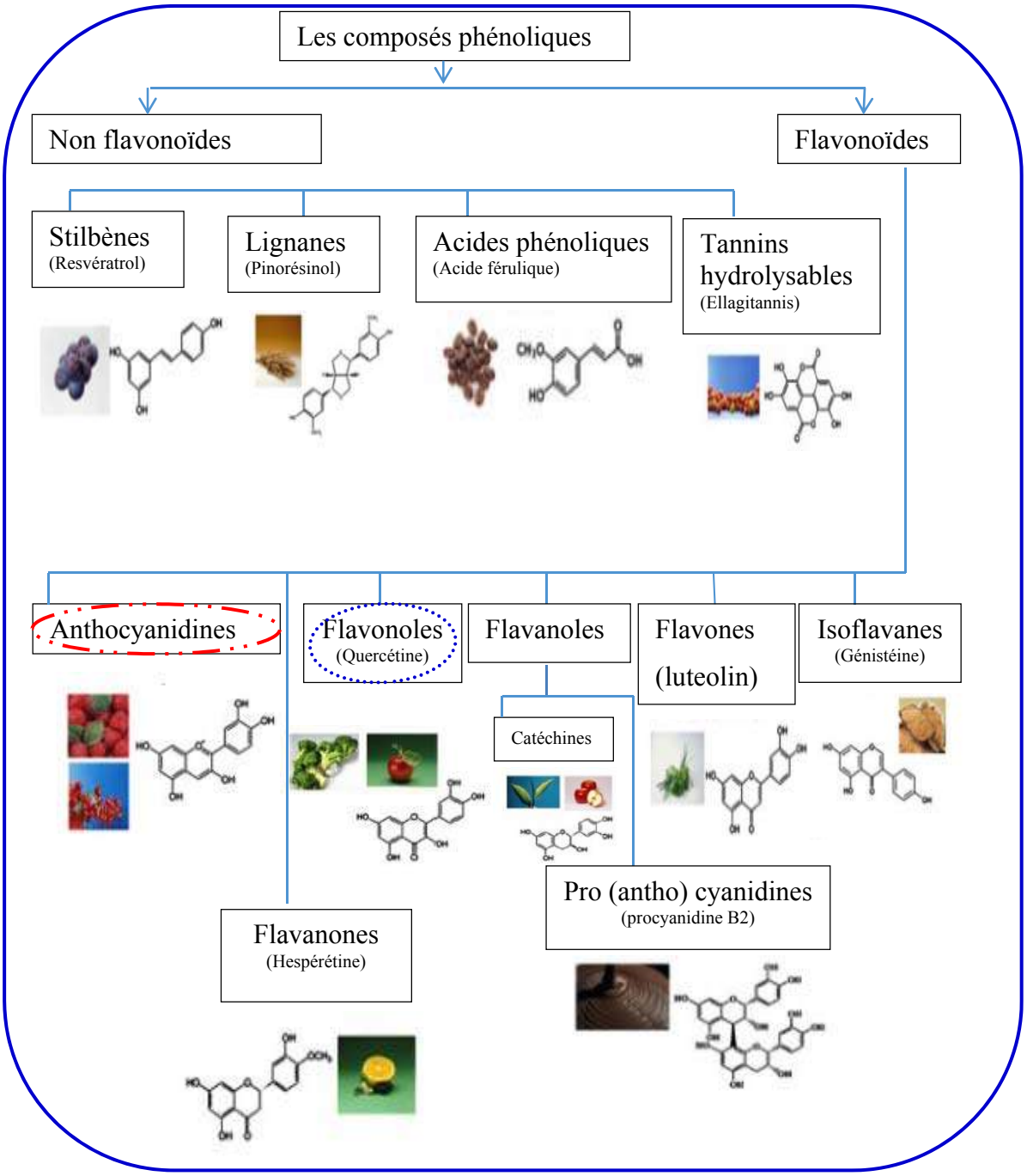


Figure II.2. Différentes catégories des composés phénoliques.

II.4. Activité antioxydante des composés phénoliques

La propriété la plus décrite de la plupart des composés phénoliques est leur capacité d'agir comme des antioxydants. Cette capacité est strictement dépendante de leur structure. Parmi les familles de composés phénoliques, les flavonoïdes sont les plus efficaces dans le processus d'inhibition des molécules oxydantes [97].

Des recherches sur les relations structure-activité des flavonoïdes ont mis en évidence le rôle des composés structurels spécifiques dans le piégeage des radicaux [98]. Ainsi, il a été montré que l'activité des flavonoïdes dépend, essentiellement, du nombre et de l'arrangement des groupements fonctionnels (hydroxyles) [97].

Les relations structure-activité dans le cas des flavonoïdes suggèrent que leur pouvoir antioxydant est favorisé par plusieurs éléments structuraux [99]:

- la présence d'une fonction catéchol sur le cycle B, motif orthodiphénol, qui confère une plus grande stabilité de la forme radicalaire et participe à la délocalisation des électrons ;
- la présence d'un motif énone (double liaison C_2-C_3), en conjugaison avec la fonction carbonyle en position C_4 dans le cycle C permet la délocalisation des électrons à partir du cycle B ;
- la présence de groupement hydroxyle libre en position 3 en combinaison avec la double liaison C_2-C_3. La glycosylation ou la méthylation de ce groupement conduit à une diminution importante de l'activité anti-oxydante.
- la présence de deux groupements hydroxyles en positions 3 et 5 avec la fonction cétone en position 4 des cycles A et C sont essentiels pour un potentiel antioxydant maximal.

Les flavonols (la quercétine, la myricétine et le kaempférol) sont connus pour être les antioxydants les plus efficaces de tous les flavonoïdes [100]. Les anthocyanes (la delphinidine, la cyanidine et la malvidine) occuperaient alors la deuxième position après les flavonols [101].

La quercétine est un exemple de flavonoïdes très connus dont la structure répond à tous ces critères (Figure II.3).

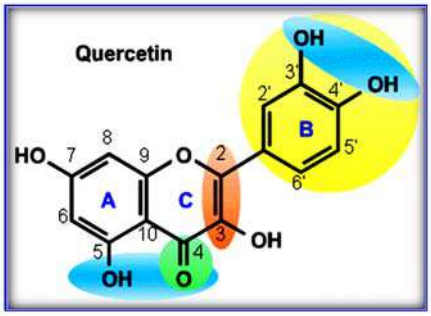


Figure II.3. Groupements et fonctions influençant l'activité anti-oxydante de la quercétine [102].

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés intéressantes dont leur puissant pouvoir antioxydant, a considérablement augmenté. En effet, leur utilisation est encouragée en raison de la toxicité des produits équivalents issus de synthèses chimiques impliquée dans la prolifération des cellules cancéreuses [103].

II.5. Sources des antioxydants phénoliques

Chez les végétaux, il y a un grand potentiel de composés phénoliques ayant une activité antioxydante, et les sources sont très nombreuses et variées.

II.5.1. Sources végétales

Les antioxydants phénoliques d'origine naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures [104]. Par ailleurs, divers fruits et boissons renferment des composés phénoliques antioxydants [105]. Les légumes et céréales contiennent aussi des molécules antioxydant de nature phénolique [100,101].

Les plantes médicinales comme le romarin [106], et la zédoaire (curcuma) [107], certaines graines de plantes comme les graines de canola, et de sésame [108] ainsi que les feuilles, racines, tiges et écorces de divers arbres [109] sont également des sources intéressantes de molécules phénoliques antioxydantes.

II.5.2. Déchets et sous-produits de l'industrie agro-alimentaire

Les déchets et les sous-produits issus de l'industrie agro-alimentaire représentent aussi une source potentielle de molécules d'intérêts principalement de nature phénolique et sont caractérisés par une forte capacité antioxydante. Les antioxydants phénoliques ont été identifiés dans divers sous-produits comme des marcs de raisins (pellicules et pépins) générés lors de la vinification, pressage du raisin [110], des margines et des grignons d'olives après l'extraction d'huile d'olive [111], des pellicules de pomme, de poires et de pêches [112], de pomme de terre [113], des feuilles d'olivier [114], des racines d'arachide [115], et des résidus de feuilles de thé [116].

Dans cette partie, l'aubergine est présentée de façon plus détaillée, puisqu'il s'agit de la source qui a été retenue pour ce travail de thèse. L'extraction des composés phénoliques a été menée à partir de pellicules d'aubergine (sous-produits de l'épluchage).

Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction et la caractérisation (quantitatives et qualitatives) de ces composés à partir de différents déchets et sous-produits issus des industries agro-alimentaires [113,114]. L'extraction des composés phénolique à partir de cette biomasse renouvelable et inépuisable pourrait permettant d'obtenir

des molécules antioxydantse de hautes valeurs ajoutées incorporables dans différents produits alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques [119].

II.6. Aubergine, une source végétale des antioxydants phénoliques

II.6.1. Généralité sur l'aubergine

L'aubergine, connue aussi sous les noms de brinjal, d'eggplant, ou d'al-bâdinjân, appartient à la famille des *Solanaceae* [120]. Le terme désigne la plante et le fruit.

L'aubergine (*Solanum melongena* L.) est principalement cultivée en Asie, en Afrique et dans les régions subtropicales (Inde, Amérique centrale), mais est aussi cultivée dans certaines régions tempérées comme la zone méditerranéenne et le sud des États-Unis [121].

Conformément aux données statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, la production mondiale d'aubergines est d'environ 51,3 millions de tonnes par an ce qui en fait la cinquième culture solanacée la plus importante économiquement après la pomme de terre, la tomate, le poivron et le tabac [122]. L'Asie occupe la majeure partie de la surface mondiale cultivée (94%, 48,22 millions de tonnes).

L'aubergine présente une grande variabilité morphologique (couleur, forme, et taille) [120]. En se basant sur la forme du fruit, l'aubergine est classée en trois principales variétés botaniques: les variétés à fruits arrondis (*S. melongena* var *esculentum*), allongés (*S. melongena* var *serpentium)*, et demi-allongés (*S. melongena* var *depressum*) [123]. Cependant, dans notre étude nous avons utilisés les fruits des variétés de forme allongés et de couleur violet sombre qui sont les plus communes dans la région méditerranéenne.

Le fruit de l'aubergine (Figure II.4-A) est considéré comme un légume mais botaniquement c'est une baie à péricarpe entièrement charnu contenant des pépins.

La coupe longitudinale (Figure II.4-B) d'un fruit arrivé à maturité, montre de l'extérieur vers l'intérieur deux parties bien différenciées: l'épicarpe appelé pellicule ou peau, est la zone épidermique du fruit et le mésocarpe appelé pulpe ou chair représente sa partie interne sur laquelle sont concentrés des graines colorées.

La pulpe est la partie la plus importante en volume de l'aubergine, elle est la partie consommée du fruit tandis que la peau est la partie généralement éliminée. Sur une coupe transversale de la pulpe (Figure II.4-C), deux zones se distinguent [124]:

- Le mésocarpe sans graines (pulpe du tiers inférieur près du pédoncule) de structure compacte, gorgé d'eau à l'extérieur (sphère.1).
- Le mésocarpe avec graines (pulpe placentaire) de structure spongieuse, plein d'air à l'intérieur (sphère.2).

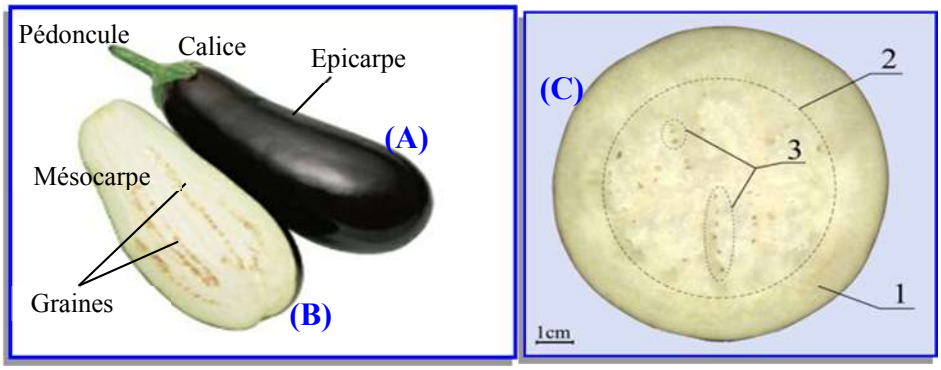


Figure II.4. Schéma détaillant la structure de l'aubergine [124].

(A): Fruit entier, **(B)** : coupe longitudinale de l'aubergine, **(C)** coupe transversale de la pulpe. **1** : Pulpe compacte, **2** : Pulpe spongieuse, **3** : Concentration de graines

Sur le plan nutritionnel, les fruits fraiches d'aubergines contiennent environ 7-11% de masse sèche, 3-4% de glucides, de faibles quantités de protéines et de lipides, environ 1,5% de fibres alimentaires [125]. Elle a une valeur calorique très faible et fait partie des légumes nutritifs en raison de sa teneur élevée en vitamines, minéraux et composés biologiquement actifs pour la santé humaine [126].

L'intérêt nutritionnel de l'aubergine réside également dans le fait que ce fruit-légume contient des composés antioxydants, de nature phénolique pour la plupart. Elle est classée parmi les dix premiers légumes en termes de capacité anti-oxydante [127].

II.6.2. Principaux composés phénoliques des aubergines

Chez l'aubergine, les non-flavonoïdes (incluant les acides phénoliques) et les flavonoïdes (anthocyanes et flavonols) sont les principaux composés phénoliques constitutifs de ce fruit. Une revue comparative du contenu en ces composés phénoliques de différentes variétés d'aubergine et de leurs structures chimiques a été établie par Niño-Medina et *coll.* [128].

II.6.2.1. Composés non flavonoïdes

Les composés non flavonoïdes ne possèdent pas de squelette «flavone», ils regroupent principalement les acides phénoliques. Ces derniers font partie des formes les plus simples des composés phénoliques. Ils sont divisés en deux groupes distincts que sont les dérivés de l'acide benzoïque (C_6-C_1) et ceux de l'acide cinnamique (C_6-C_3) [129].

Les acides phénoliques de l'aubergine sont représentés exclusivement par les acides hydroxycinnamiques qui ne se trouvent que dans les pulpes [128]. Ces acides n'existent pas sous forme libre dans la pulpe d'aubergine mais se trouvent plutôt sous forme estérifiée par l'acide quinique. L'ester 5-caféoylquinique, aussi nommé acide chlorogénique, est l'ester

hydroxycinnamique le plus abondant [130]. Il représente environ 96% du total des acides phénoliques de la pulpe d'aubergine [131].

II.6.2.2. Composés flavonoïdes

Les flavonoïdes regroupent un vaste ensemble de composés naturels polyphénoliques. Ils apparaissent dans divers organes du système végétal (racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits). La classe des flavonoïdes comporte à elle seule plus de 4000 molécules, soit environ 50% des composés phénoliques, qui ont été caractérisés chez les végétaux et la liste ne cesse de croître [132].

Structuralement, les flavonoïdes possèdent tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones C_{15} (C_6-C_3-C_6) de type phénylchromane. Elles sont dotées en effet de deux noyaux benzéniques reliés par une chaîne propyle, comme le montre la Figure II.5 [133].

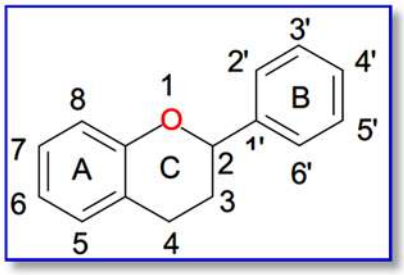


Figure II.5. Structure de base des flavonoïdes [134].

D'après Ribéreau-Gayon [135], les trois cycles constituant ce type de molécules sont dénommés cycle phloroglucinol pour le cycle A, cycle catéchol si un atome d'hydrogène est en position 5' ou pyrogalloyl s'il s'agit d'un groupement hydroxyle pour le cycle B et cycle pyrane pour le cycle C.

C'est la structure de l'hétérocycle pyranique central (C) et son degré d'insaturation et d'oxydation qui permettent de distinguer les différentes sous-classes de flavonoïdes [133], dont les groupes majeurs sont montrés dans la Figure II.7. Ces diverses sous-familles de flavonoïdes se rencontrent le plus souvent à l'état naturel sous forme de glycosides [136].

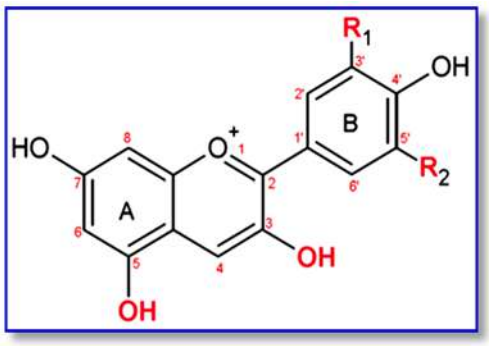
Parmi ces flavonoïdes glycosylées, deux sont présentes dans l'aubergine: les anthocyanes et les flavonols.

a/Anthocyanes

Les anthocyanes font partie de la famille des flavonoïdes. Le terme anthocyane, dérivé des mots grecs (fleur et bleu (*anthos* = fleur, et *kyanos* = bleu) [137], est un terme général qui regroupe les aglycones ou anthocyanidines et leurs dérivés glycosylés ou anthocyanines [89].

Les anthocyanines n'existent pas, naturellement, sous forme aglycone mais sous forme d'hétérosides [138]. Elles sont considérées comme le plus grand groupe des pigments hydrosolubles dans le règne végétal [137]. Ce sont des pigments naturels responsables de couleurs (bleu, rouge, mauve, rose et orange) attirantes observée dans la nature (fleurs, fruits, légume et feuilles) [139]. Plus de 500 structures différentes de ces pigment ont été identifiées [140].

Les anthocyanidines (forme aglycone) sont la structure de base des anthocyanines (forme glycosylée). Ces molécules sont constituées de deux cycles phénoliques A et B reliés par l'ion flavylium (cycle C), un hétérocycle oxygéné, cationique et insaturé, qui dérive du noyau 2-phényl-benzopyrilium comme indiqué dans la Figure II.6 [137].



Aglycone	Schéma de substitution	
	R_1	R_2
Pélargonidine	H	H
Cyanidine	OH	H
Delphinidine	OH	OH
Péonidine	OCH_3	H
Pétunidine	OH	OCH_3
Malvidine	OCH_3	OCH_3

Figure II.6. Structure chimique de quelques anthocyanidines de base chez les fruits et légumes [141].

Selon le nombre et la position des substituants hydroxyle et méthoxyle, on dénombre dix-huit aglycones différents, dont seulement six se retrouvent le plus souvent dans les fruits et légumes: la pélargonidine, la cyanidine, la delphinidine, la péonidine, la pétrunidine et la malvidine [141].

Les anthocyanidines constituent le groupement chromophore du pigment [142]. Les aglycones instables sont ensuite glucosylées généralement en position 3 (ou même en C_3 et C_5) pour former des anthocyanines. Ces anthocyanines peuvent être ensuite substituées par des acides (acide p-coumarique, caféique,…) ou aliphatiques (acide acétique,….). Elles se différencient, d'une part, par leur degré d'hydroxylation et de méthylation sur le noyau B, et d'autre part par le nombre, la position et la nature des sucres liés, ainsi que le nombre et la nature des acides aliphatiques ou aromatiques estérifiant le sucre (anthocyanines acylées) [143].

Chez l'aubergine, les anthocyanines sont exclusivement localisés dans la peau (pellicule). Les anthocyanines de la pellicule d'aubergine dérivent principalement de deux anthocyanidines

que sont la delphinidine et la pétunidine. Néanmoins, les dérivés de la delphinidine restent l'anthocyanine majoritaire dans la pellicule de différentes variétés d'aubergine [128].

La teneur globale (de 11,53 g/100 g_{MS} jusqu'à 54,8 mg/100 g_{MS}) de la delphinidine 0,55g/100g_{MS} et de la petunidine [144] et les proportions sont des caractéristiques variétales. Les formes les plus rencontrées sont issues d'une glycosylation en position C_3 et (C_3, C_5) avec des mono- et di-saccharides (glucose, rutinose, galactose, rhamnose) et acylation sur le groupe hydroxyle de ces sucres par des acides cinnamiques de type p-coumarique et caféique, augmentant ainsi la diversité des composés anthocyaniques de la pellicule d'aubergines

Compte tenu de leur structure, nature ionique, différentes formes d'anthocyanes existent dans une solution aqueuse à différentes valeurs de pH, donnant plusieurs couleurs et teintes [145]. Cette variation est une particularité des molécules anthocyaniques. Aux pH très acides (pH 1-2), les anthocyanes (cations flavylium, stables) ont une forte coloration rouge. Cette coloration vire vers le bleu (bases quinoniques) quand le pH augmente vers la neutralité (pH 6,5-8). A pH neutre, l'anthocyane est incolore (pseudobase carbinol). Celle-ci à son tour, peut générer la forme chalcone (incolore à légèrement jaune) qui est très instable (pH>8) [146]. Ces changements de couleur sont dus à des équilibres chimiques réversibles entre les différentes formes obtenues à partir de réactions de déprotonation et d'hydratation de l'ion flavylium [147].

b/ Flavonols

Les flavonols sont des pigments jaunes qui se caractérisent par une fonction cétone sur le carbone 4 (C_4), par une insaturation de l'anneau C en position 2,3 et par un groupement hydroxyle additionnel sur le carbone 3 (C_3) de l'hétérocycle central C (Figure II.7). Parmi les flavonols, on retrouve le kaempférol, la quercétine, la myricétine et la rutine.

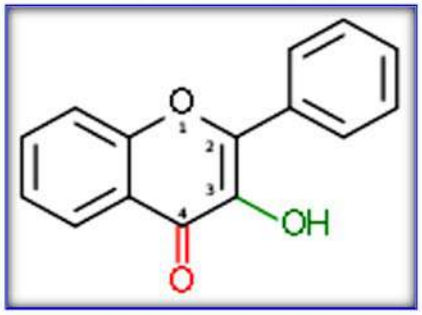


Figure II.7. Structures de base des flavonols [148].

Les anthocyanines (delphenidine) de la pellicule des aubergines contribuent à l'augmentation de l'activité antioxydante de ce fruit [149]. L'aubergine a été utilisée en médecine traditionnelle [150]. Par exemple, des extraits de tissus ont été utilisés pour le

traitement de l'asthme, de la bronchite, du choléra et de la dysurie [151]. Les composés phénolique des aubergines ont une action potentielle sur l'hyperlipidémie chez les animaux [152] et un effet modeste sur l'hypercholestérolémie chez les humains [153], des activités hépato-protectrices et antidiabétiques [154] et un certain nombre d'autres [155].

II.7. Méthodes d'extraction des composes phénoliques

La grande abondance de composés phénoliques dans les déchets et les sous-produits agricoles et industriels, leur extraction et leur activité antioxydante ont fait l'objet de plusieurs revues scientifiques publiées dans la littérature [91,152]. La valorisation de ces antioxydants phénoliques d'origine naturelle représente un potentiel économique énorme. Pour être valorisés, les molécules recherchées doivent d'abord être séparées de leur matrice végétale d'origine. L'extraction par solvant est la méthode la plus ancienne et la plus répandue pour la récupération de ces molécules végétales [157].

II.7.1. Méthodes conventionnelles

II.7.1.1. Définitions et mécanismes

L'extraction solide-liquide consiste en la mise en contact d'une phase solide (la matrice végétale) avec une phase liquide (le solvant, aqueux ou organique) afin d'extraire et de solubiliser les molécules d'intérêt (soluté) et les diffuser à l'extérieur du solide. La diffusion est un phénomène de déplacement des solides solubles, contenus dans les structures végétales, vers le solvant, qui se traduit par leur migration irréversible, des zones de forte concentration vers celles de faible concentration. Au bout d'un certain moment un équilibre est atteint, c'est-à-dire la diffusion s'arrête quand la concentration à l'intérieur des cellules est égale à la concentration à l'extérieur des cellules [158].

Toute une série d'étapes successives se déroule pendant la période d'interaction entre la produit solide contenant les molécules d'intérêt et le solvant qui réalise l'extraction [159]. Ces étapes incluent (Figure II.8):

→ transfert du solvant du milieu environnant vers la surface externe du solide,

→ diffusion du solvant au sein de la matrice solide,

→ dissolution du soluté dans le solvant,

→ diffusion du soluté dissous dans le solvant de la matrice solide vers la surface,

→ transfert par convection ou diffusion du soluté vers la masse restante du solvant.

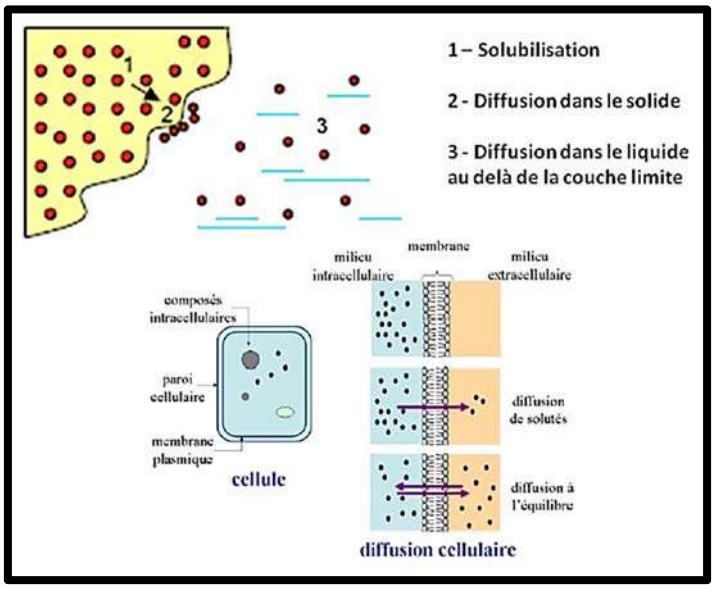


Figure II.8. Mécanisme de l'extraction solide liquide et schéma de la diffusion à travers de la membrane cellulaire [159].

II.7.1.2. Paramètres influençant l'extraction solide-liquide

Plusieurs auteurs ont trouvé que le solvant (sa nature et son pH), le couple température-temps d'extraction, le rapport liquide-solide et la taille des particules, sont d'importants paramètres qu'il est nécessaire d'optimiser afin d'assurer une extraction efficace et de garantir le maintien de la stabilité des composés phénoliques.

a/ Nature du solvant et pH

Le choix du solvant est fondamental pour obtenir un processus d'extraction optimal car la solubilisation des composés phénoliques dépend de sa nature. Les propriétés physiques et le coût sont les critères de choix du solvant d'extraction. Il doit être sélectif, posséder une grande capacité de dissolution, une température d'ébullition peu élevée et une viscosité faible, inoffensif pour l'environnement et peu coûteux [160].

Les données de la littérature montrent que l'eau et des mélanges de solvants (méthanol, acétone et éthanol) avec l'eau sont les solvants les plus employés pour extraire les composés phénoliques et les anthocyanines des aubergines.

Boulekbache-Makhlouf et *coll.* [161] ont comparé l'extraction des composés phénoliques des pellicules d'aubergine avec trois solvants: méthanol 70%, éthanol 70% et acétone 70%. L'extraction par le méthanol 70% a donné la teneur la plus élevée en anthocyanines (82,83 mg EDG/100g_{MS}), alors que l'acétone 70% est le solvant le plus approprié pour extraire respectivement les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins totaux des pellicules

d'aubergine (29,3 mg EAG/100g_{MS}; 18,5 mg EQ/100g_{MS} et 5,37 mg EAT/100g_{MS} respectivement).

Le pH intervient également dans la dissolution des composés phénoliques. En ce qui concerne plus particulièrement les anthocyanes, ces molécules sont instables en solution neutre ou alcaline [162]. L'acidification du solvant améliore la stabilité des anthocyanines et favorise la dénaturation membranaire, facilite la solubilisation des composés phénoliques et leur diffusion au travers de la matrice végétale [163].

D'après la littérature, l'ajout de quantité d'acide chlorhydrique dans le solvant s'est avéré efficace pour l'extraction des anthocyanines à partir des pellicules d'aubergine [160,161].

b/ Couple temps-température

Les paramètres de temps et de température ont montré leur importance dans l'extraction des composés phénoliques. Ils doivent être choisis de manière à limiter la dégradation des composés phénoliques et à minimiser le coût énergétique du procédé.

Les résultats obtenus sur l'étude de l'influence du temps d'extraction optimal des composés phénoliques divergent [166]. En effet, certains auteurs montrent la nécessité de plus longs temps de contact de 1 à 24 h [163,164] alors que d'autres préconisent de courtes durées d'extraction de 5 à 30 min [165,166].

D'une manière générale et de façon simpliste, l'augmentation de la température est favorable au rendement d'extraction, car la chaleur peut agir à la fois sur le solvant et sur le solide de la manière suivante : **(1)** facilite l'extraction du fait de la perméabilisation des parois cellulaires par dénaturation des protéines membranaires ; **(2)** augmente la solubilité et la diffusivité moléculaire, améliorant ainsi le transfert de masse; **(3)** diminue la viscosité du solvant et la tension de surface et augmente sa capacité de diffusion [171].

Cependant, les anthocyanes étant thermosensibles, une température extrêmement élevée et une exposition prolongée augmentent les chances de leur oxydation. Ceci aurait pour conséquence, une diminution du rendement d'extraction et une dégradation de l'activité antioxydante des extraits [172]. En général, une élévation de la température permet de diminuer les temps de contact et vice versa et ce, sans diminution notable du rendement [166].

c/ Rapport liquide-solide

L'extraction des composés phénoliques est meilleure lorsque le rapport liquide-solide augmente car le transfert de matière est amélioré. Cependant, des rapports très élevés pourraient influencer le coût économique et énergétique de l'extraction. Par ailleurs, des rapports solide-

liquide trop faibles pourraient causer des problèmes de saturation du soluté dans le solvant et pourraient diminuer la pénétration du solvant dans la matrice végétale. L'optimisation de ce paramètre est donc nécessaire afin de trouver un rapport liquide-solide approprié favorisent l'extraction tout en réduisant les coûts du procédé [173].

Une optimisation de l'extraction des anthocyanines de pellicules d'aubergine fraiche par l'éthanol acidifié (HCl, 1,5 mol/l) en utilisant la méthodologie des surfaces de réponses (RSM), a été effectuée par Thirunavukkarasu et Nithya [174]. Dans cette étude, l'effet de trois variables critiques : le rapport solide-solvant (1:15-1:30), la température d'extraction (60 -90°C) et le temps d'extraction (30-90 min) sur les rendements des anthocyanines a été étudié en utilisant RSM. Le meilleur ratio solide-liquide trouvé est 1:26 avec 70 min d'incubation à 76,5°C qui donnent un rendement en anthocyanines de 148 mg/100g.

d/ Taille des particules

Les matrices solides, à l'état naturel, sont trop larges et elles sont souvent préalablement découpées ou broyées pour faciliter l'extraction [175]. La réduction de la taille des particules solides par broyage permet la rupture des structures vacuolaires dans lesquelles sont accumulés les composés phénoliques et donc l'intensification des phénomènes de transfert de matière en augmentant la surface de contact entre solvant et solide. Le solvant aura ainsi accès facilement aux composés phénoliques pour les solubiliser et les libérer [176]. Cependant les particules de taille très fine tendent à s'agglomérer et à influer négativement sur l'extraction en réduisant la pénétration du solvant à l'intérieur de la matrice solide. En plus, les particules excessivement broyées rendent l'étape de purification difficile [177].

II.7.2. Méthodes émergentes d'intensification de l'extraction

En se référant à la littérature, les méthodes conventionnelles d'extraction des composés phénoliques reposent sur une diffusion solide/liquide par solvants supposent la non-dénaturation de la matrice végétale et la conservation de l'intégrité des membranes cellulaires [178]. La libération de ces composés par diffusion simple nécessite des durées d'extraction très longues et une consommation importante de solvant et d'énergie [179].

Durant les dernières décennies, la diffusion solide/liquide s'est vue assistée par des méthodes émergentes non conventionnelles, telles que les ultrasons, les micro-ondes, les fluides supercritiques, les hautes-pressions, les champs électriques pulsés et les décharges électriques de haute tension pour intensifier l'extraction moléculaire à partir de différentes matrices [118]. Ces prétraitements thermique et mécanique ont pour objectif d'endommager les membranes

et/ou parois cellulaires afin de faciliter la libération des composés phénoliques dans le milieu environnant.

Le but d'intensifier l'extraction à l'aide de ces prétraitements est d'atteindre des rendements élevés en composés phénoliques tout en réduisant la consommation de solvants organiques et en diminuant les énergies mises en jeu (température et temps opérationnel de diffusion). En particulier, le prétraitement mécanique par ultrasons est une méthode d'intensification qui agissent sur les membranes et/ou parois cellulaires et facilitent les opérations d'extraction.

II.8. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

II.8.1. Définitions

Dans les secteurs de l'agro-alimentaire et de la pharmacie, les ultrasons trouvent des applications dans l'extraction de divers composés d'intérêt à partir de différentes matrices [176,177].

Les ultrasons (US) sont définis comme des ondes mécaniques et élastique pouvant se propager dans les solides, les liquides et les gaz à une fréquence supérieure à celle audible par l'oreille humaine (~20 kHz) [182]. L'amplitude ou l'intensité des ondes permet de classer les ultrasons pour leur application industrielle [183] : ultrasons de faible intensité (< 1 W/cm^2) pour le contrôle de la qualité des produits et les ultrasons de forte intensité (10-1000 W/cm^2) pour la modification des produits par rupture physique des tissus.

II.8.2. Equipements de traitement

Lors d'une extraction solide-liquide assistée par US, l'échantillon est immergé dans l'eau ou dans le solvant et est soumis à l'action des ultrasons à l'aide de deux principaux systèmes (Figure II.9) que sont le bain à ultrasons (Figure II.9-A) et la sonde à ultrasons (Figure II.9-B) [184].

Le bain à ultrasons génère des puissances acoustiques de 1 à 5 W/cm^2. Ce type d'équipement agit indirectement dans le milieu liquide-solide du fait de la présence d'un amortisseur de l'effet des ultrasons qui est le contenant du mélange à traiter. Au contraire, la sonde à ultrasons est directement immergée dans la solution, où la sonication a lieu, et permet ainsi une irradiation directe du milieu (la pointe de la sonde) tout en générant des puissances acoustiques nettement supérieures à celle fournies par le bain (100 fois plus élevées) [185]. Le système de la sonde est plus puissant grâce à une intensité ultrasonique délivrée par une surface plus petite (seulement la pointe de la sonde), en comparaison avec le bain ultrasonore [184].

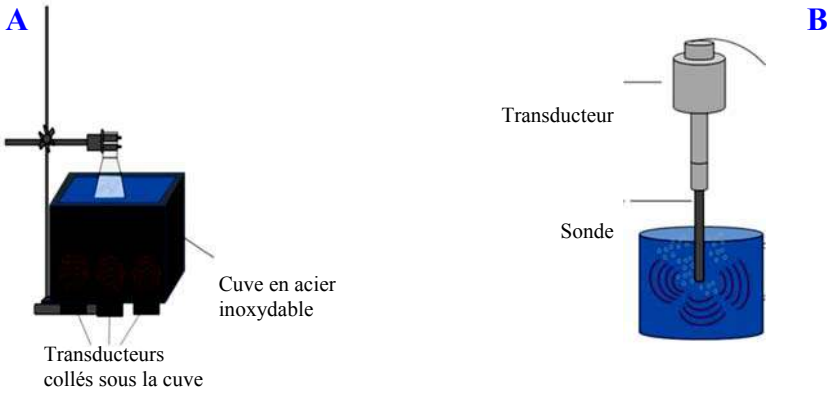


Figure II.9. Schéma des systèmes à ultrasons couramment utilisés: bain (A) et sonde (B) [184].

Dans la littérature, il n'existe que trois publications sur l'utilisation des ultrasons pour l'extraction des anthocyanines présents dans les pellicules d'aubergine. Toutes ces extractions ont été réalisés par le bain à ultrasons [182-184].

II.8.3. Mécanismes d'action

La propagation des ondes sonores dans les liquides soumis aux ultrasons à hautes intensités induit en alternance des cycles de haute pression (compression) et des cycles de basse pression (raréfaction) (Figure II.10).

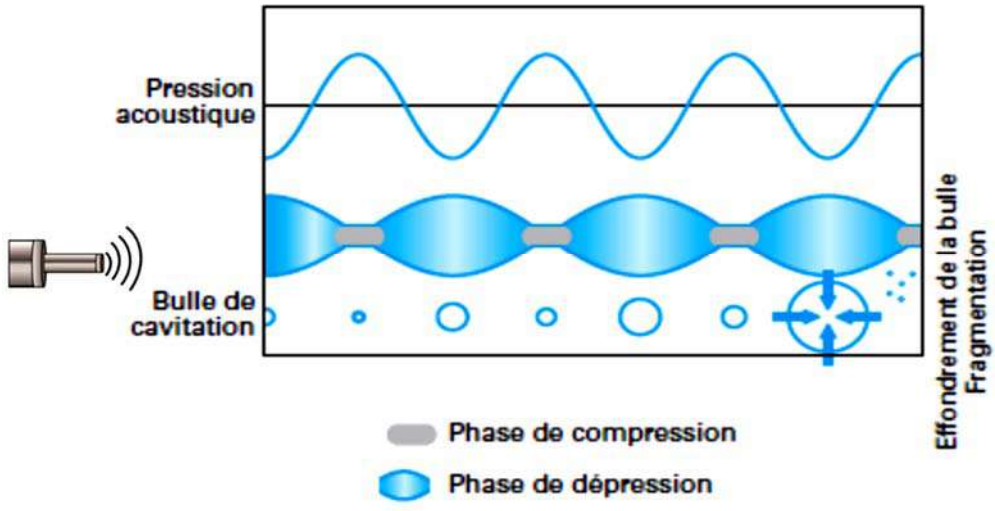


Figure II.10. Cycle de croissance de la bulle de cavitation par l'action des ultrasons [189].

Les séries de ces cycles de compressions et de raréfactions créent une pression acoustique, celle-ci est positive pendant les cycles de compression et négative pendant les cycles de

raréfaction. Cette différence de pression implique des mouvements moléculaires au sein du milieu induisant des distensions et des rapprochements entre des groupes de molécules. Lors d'un cycle de raréfaction la distance entre molécules est augmentée et au-dessus d'une certaine distance, des petites bulles (micro-cavités) contenant de la vapeur du liquide et des gaz dissous vont se former dans le liquide. Ces bulles naissantes sont capables de croître au cours des phases de dépression et de diminuer en taille au cours des cycles de compression [190].

Au moment de la dimension critique, les bulles implosent violemment, libérant ainsi une grande quantité d'énergie [191]. Ce processus de compression-raréfaction des molécules du milieu et le collapse de bulles est appelé « cavitation » [192]. Lors de cette cavitation, des valeurs locales de température et de pression très élevées au moment de l'effondrement ont été estimées jusqu'à 5000 K [193] et entre 50 à 1000 atm [194], respectivement.

Proche d'une surface solide (Figure II.11), l'effondrement des bulles est asymétrique et l'implosion qui en résulte produit des jets de liquide.

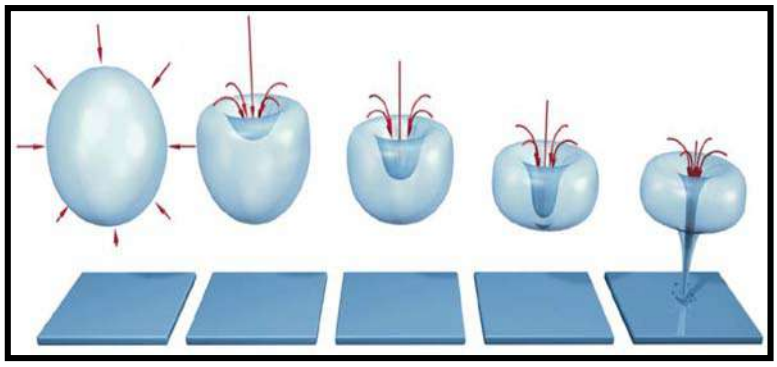
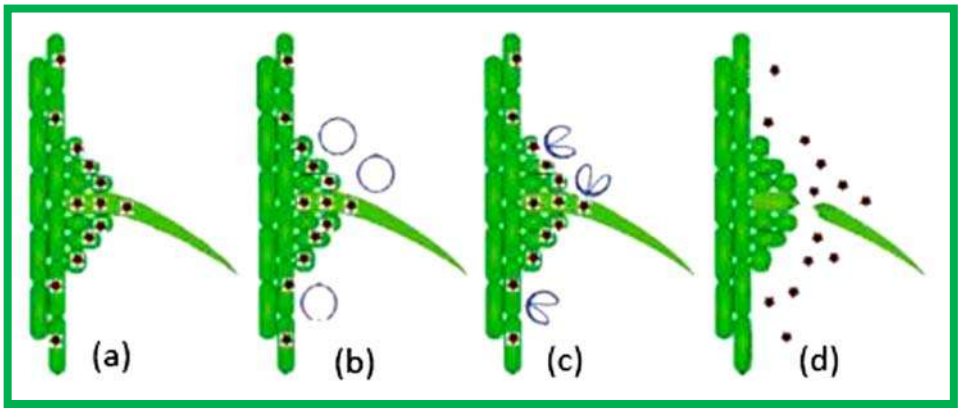


Figure II.11. Evolution d'une bulle de cavitation à proximité d'une surface solide

Ces jets liquides produits ont un impact physique et mécanique important sur la surface solide [195].

Dans le cas d'une matrice végétale (Figure II.12), les jets de liquides qui peuvent atteindre la vitesse de 280 m/s vont détruire les parois cellulaires, augmentant ainsi leur perméabilité. Cela améliore l'accès du solvant à l'intérieur de la cellule et la solubilité des composés due aux températures et aux pressions élevées dans la zone de cavitation et donc améliore le processus de diffusion. Par conséquence, le contenu cellulaire est plus facilement libéré dans le milieu environnant [196].

En outre, la cavitation est influencée par beaucoup de facteurs à savoir la fréquence, la puissance, le solvant, la température et le temps d'application des ultrasons [197]. Il est important de les maîtriser afin d'assurer une extraction efficace.



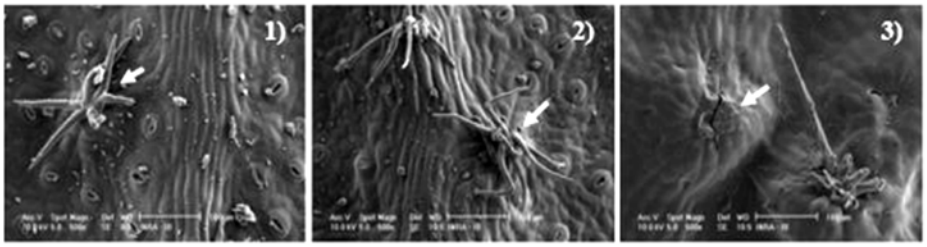
(a) génération de bulles de cavitation; (b) explosion de bulles; (c) création de micro jet; et (d) libération de composés d'intérêt.

Figure II.12. Mécanisme proposé de l'effet des bulles de cavitation sur la surface d'une matrice végétale [184].

Les microscopies électroniques à balayage (MEB) ont fourni l'évidence des effets mécaniques des ultrasons sur la surface de matrices végétales, principalement montrés par la destruction des parois cellulaires et la libération du contenu cellulaire.

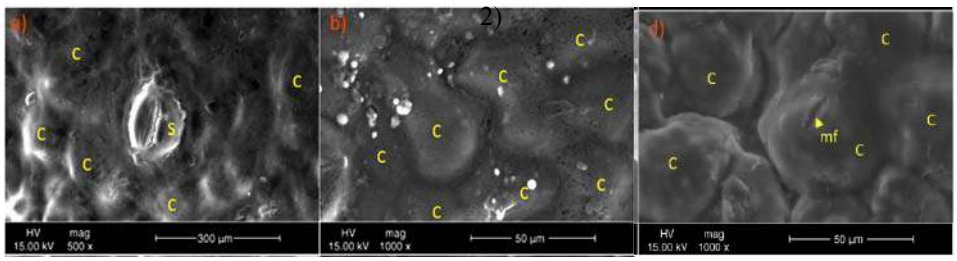
La Figure II.13 correspond à des observations par MEB, issues des publications scientifiques, de l'effet des ultrasons sur le changement structural de la surface de feuille des trichomes (Figure II.13-A) et de pellicule de fruits d'Opuntia. *stricta* (Figure II.13-B).

A



1) Contrôle (feuilles non-traitées), 2) après traitement conventionnel, 3) après traitement aux US.

B



a) Avant diffusion (contrôle), b) après 1 h de diffusion (pellicules non-traitées) sans traitement, et d) après traitement aux US à sonde (10 min, 400 W) + EAS, c: cellules, s : stomate.

Figure II.13. Observation microscope par MEB la surface des feuilles de trichomes **(A)** et des pellicules de fruits d'Opuntia. *stricta* **(B)** [184].

Un endommagement cellulaire et un transfert de masse effectif sont cités comme deux facteurs majeurs conduisant à l'intensificattion de l'extration assistée par ultrason [192]. L'extraction des composés phénoliques antioxydants par ultrasons est une technique écologique et une alternative peu coûteuse, simple et efficace aux extractions simple (conventionnelles). Cette méthode émergente présente de nombreux avantages par rapport à l'extraction conventionnelle. En particulier, elle permet d'accélérer les cinétiques d'extraction en augmentant le rendement maximal de l'extraction, de réduire considérablement le temps d'extraction et donc la consommation énergétique avec une reproductibilité élevée, et d'extraire de manière sélective les composés d'intérêt [198].

II.9. Méthodes de caractérisation des composés phénoliques

Les teneurs des extraits, de plusieurs variétés d'aubergine issues de différentes régions du monde, en composés phénoliques et la nature de molécules qu'ils contiennent ont largement été étudiées et décrites dans la littérature.

Les composés phénoliques peuvent être dosés soit dans leur totalité soit individuellement après leur extraction du matériel végétale. De nombreuses méthodes spectrophotométriques et chromatographiques ont été développées pour quantifier et caractériser les composés phénoliques des extraits végétaux [195,196]. Dans cette étude, seules les principales méthodes utilisées dans l'analyse des composés phénoliques des aubergines sont discutées.

II.9.1. Méthode spectrophotométrique

Les méthodes de dosage des composés totaux sont généralement basées sur l'oxydation de ces composés et le développement d'une coloration. Ces méthodes sont simples et rapides à mettre en œuvre ; elles sont plus adaptées pour le contrôle de routine des extraits végétaux. Elles sont communément acceptées pour l'estimation du contenu total en composés phénoliques des extraits [201]. La méthode colorimétrique la plus fréquemment utilisée est celle de Folin-Ciocalteu [202]. C'est une solution jaune contenant un mélange de deux acides phospho-molybdiques/phospho-tungstiques qui sont réduits en milieu alcalin par les fonctions réductrices des composés phénoliques présents dans l'extrait pour former un mélange d'oxydes bleus stable de tungstène et de molybdène. La coloration bleue du réactif Folin-Ciocalteu réduit (Figure II.14) absorbe fortement à 760 nm.

L'intensité de la couleur de la solution est proportionnelle à la concentration en composés réducteurs [203].

La droite d'étalonnage est généralement réalisée avec un standard comme l'acide gallique mais peut également l'être avec l'acide caféique [204].

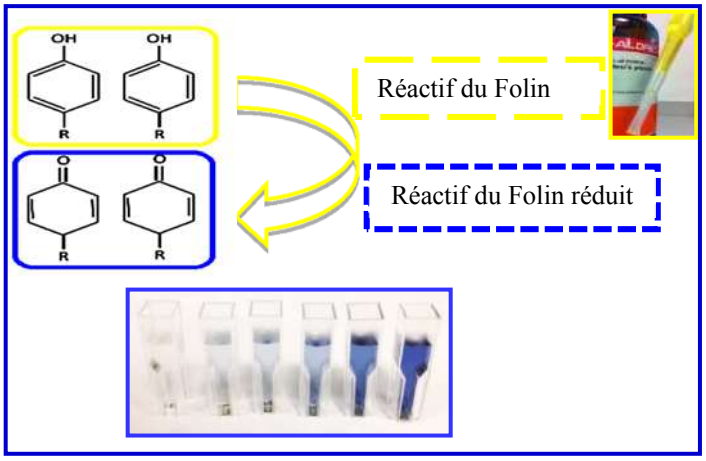


Figure II.14. Réduction du Réactif Folin-Ciocalteu

Différentes variétés du fruit d'aubergine de couleurs, formes et tailles diverses ont montré que leurs contenus totaux en composés phénoliques apparaissaient très variables. Le dosage du contenu phénolique total de 34 variétés d'aubergines indiens (8 sauvages, 4 vertes, 2 blanches et 20 violettes) a donné des valeurs comprises entre 22-234, 44-90, 50-56, 22-73 mg EAG/100g_{MF} respectivement [155]. D'autres études ont indiqué que les teneurs en composés phénoliques totaux de 26 cultivars d'aubergines provenant de Turquie peuvent varier d'une façon importante de 614 mg EAG/100g_{MF} à 1388 mg EAG/100g_{MF} [205].

Malgré la simplicité de la méthode, elle n'est cependant pas strictement spécifique des composés phénoliques. Cette méthode reste une évaluation de la capacité réductrice totale de l'échantillon car le réactif de Folin-Ciocalteu réagit avec tous les composés réducteurs présents en solution, et pas seulement celle des composés phénoliques. Il peut interférer avec des protéines et composés aminés, des sucres réducteurs ou encore l'acide ascorbique [206]. Les méthodes spectroscopiques peuvent donc conduire à une surestimation des composés phénoliques présents dans les extraits.

II.9.2. Méthode chromatographique HPLC

Les multiples atouts de la chromatographie liquide en font aujourd'hui la technique séparative la plus performante et la plus utilisée pour des analyses plus spécifiques des composés phénoliques [203,204]. Elle a l'avantage de doser les composés phénoliques individuellement, d'utiliser un très faible volume d'échantillon, de présenter une très bonne reproductibilité, une haute résolution, et une durée d'analyse relativement courte [209]. L'HPLC est facilement couplée à une variété de détecteurs [210]. Le mode de fonctionnement de l'HPLC est largement décrit [211]. Dans le monde des composés phénoliques, la séparation par l'HPLC est souvent réalisée en phase inverse (phase stationnaire apolaire) de type C_{18} [212].

La composition phénolique de différentes variétés d'aubergine a fait l'objet de nombreuses études [128]. Plusieurs techniques chromatographiques ont été utilisées pour l'analyse et l'isolement des acides phénoliques et des anthocyanes contenus dans la pulpe et la pellicule d'aubergine.

D'après Kacjan Maršić et *coll* [213], le profil phénolique de différentes variétés d'aubergine dépend fortement de la génétique (variété), de l'environnement, du type de sol et de la croissance, ainsi que des pratiques culturales et du greffage.

Winter et Herrmann [214] ont réalisé les premières études quantitatives des acides phénoliques présents dans les pulpes d'aubergine. Ces auteurs ont quantifié par HPLC la teneur en esters d'acide hydroxycinnamique des cultivars "Italien" et "Espagnol" en trouvant respectivement 63,2 et 57,5mg/100g$_{MF}$ d'acide chlorogénique comme principal constituant, et ses isomères d'acide cryptochlorogénique et neochlorogénique mais à des quantités moins importantes. Singh et *coll* [215] ont étudié par HPLC-DAD la composition en composés phénoliques des extraits de la pulpe de deux variétés d'aubergines " Blackbell" et "Millionaire". L'analyse a conduit à l'identification pour la première fois des flavonol glycosylées, à savoir la quercétine-3-glucoside, la quercetin-3-rhamnoside et la myricetine-3 galactoside.

En réalisant une hydrolyse acide de la pellicule d'aubergine (1,3 M HCl, 80°C) pour produire la forme aglycone des anthocyanines, Papanga et *coll* [165] ont signalé la présence de la delphinidine avec une concentration massique de 54,8mg/100$_{MS}$ par HPLC.

II.10. Évaluation de l'activité anti-oxydante des composés phénoliques par le test DPPH

L'activité anti-oxydante d'un extrait correspond à la capacité des composés qu'il contient à protéger un substrat de l'oxydation, notamment par le piégeage des radicaux libres.

La capacité anti-oxydante des composés phénoliques in vitro peut être évaluée grâce à une diversité de méthodes analytiques. Le test DPPH est un des plus utilisés sur les aubergines. Du point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH• présente l'avantage d'être très facile et rapide à mettre en œuvre. Il donne des résultats précis et reproductibles, et il est commercialement disponible et peu coûteux, ce qui explique sa popularité et l'étendue de son utilisation [211,212].

Le diphénylpicryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre, stable à température ambiante, ayant au centre de sa molécule un atome d'azote avec un électron libre qui lui confère la couleur bleue-violette caractéristique de la solution de DPPH• [218]. L'interaction de ce radical avec un agent antioxydant (Ar-OH) capable de neutraliser son caractère radicalaire, suite au transfert de l'atome H sur l'espèce DPPH•, ce qui conduit à la formation de diphénylpicryl-hydrazine (DPPH-H) non-radicalaire de couleur jaune facilement mesurable par spectrophotométrie à une

longueur d'onde de 515-520nm. Cette décoloration est directement proportionnelle à la recombinaison du radical [219], comme le montre la Figure II.15.

Le transfert d'un hydrogène de l'échantillon testé vers le radical libre est, très fréquemment, exprimé par la CI_{50}. Ce paramètre est défini comme la concentration du substrat, requise pour la recombinaison de cinquante pour cent du DPPH. Il a été proposé, récemment, pour l'interprétation des résultats de la méthode de DPPH [220]. Les résultats du potentiel donneur d'hydrogène d'un échantillon testé peuvent aussi exprimer en termes d'équivalence (Trolox) [219].

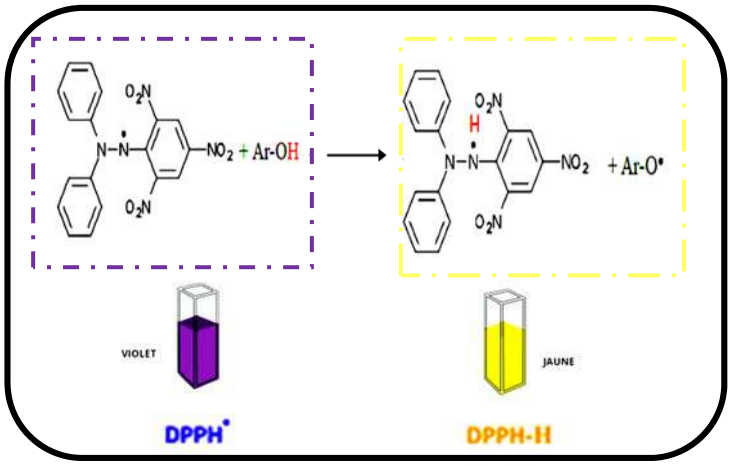


Figure II.15. Réaction de transfert-H d'un composé phénolique (Ar-OH) vers DPPH.

Eun-Ju et *coll* [221] ont étudié les activités anti-radicalaires des extraits éthanoliques (70%) et aqueux obtenus séparément à partir de calices, de feuilles, de pellicules, de pulpes et de tiges. Globalement, les extraits à l'éthanol de pellicules sont plus actifs en termes de concentration inhibitrice (CI_{50}) (0,98mg/ml), suivi de calices (3,45 mg/ml), de feuilles (4,94 mg/ml), de pulpes (12,30 mg/ml) et de tiges (13,13 mg/ml). En ce qui concerne les extraits aqueux, les calices sont les organes les plus riches qui présentent une valeur de CI_{50} de l'ordre de 0,49 g/ml, suivi par les pellicules (1,69 g/ml) alors que les pulpes (6,89 mg/ml) et les feuilles (6,47 mg/ml) sont moyennement actives et les tiges sont les moins actives avec CI_{50} de 26,20 mg/ml.

Boulekbache-Makhlouf et *coll* [222] ont réalisé l'extraction par macération aux différents solvants (70% méthanol, 70% éthanol et 70% acétone) de la pellicules d'aubergine séchées. Ils ont constaté que les concentrations inhibitrices (CI_{50}) varient aux solvants d'extraction passant de 3,97 mg/ml d'extraits acétoniques, à 4 mg/ml d'extraits méthanoliques et à 4,05 mg/ml d'extraits éthanoliques.

"Plus vous voudrez accélérer les progrès de la Science et plus vite vous la ferez périr ; ainsi succombe la poule que vous contraignez artificiellement à pondre trop vite ses œufs."

Friedrich Nietzsche

Chapitre III

MATÉRIELS ET MÉTHODES





III.1. Introduction

Le troisième chapitre de ce manuscrit est consacré à la méthodologie expérimentale adoptée dans ce travail, en présentant les matières premières étudiées et leurs préparations, le matériel employé pour la réalisation des essais expérimentaux, les différents procédés appliqués, les appareils de caractérisation et d'analyse ainsi que les formules de calcul.

III.2. Matières premières

III.2.1. Grignons d'olive

Les grignons d'olive (Figure III.1-a) proviennent d'une huilerie traditionnelle «Maâsra الشجرة المباركة» de la région d'El-Azizia (Médéa), au mois de décembre 2017. Les grignons d'olive pressés ont ensuite été stockés dès réception dans des contenants hermétiques en plastiques à 4°C jusqu'à leur utilisation.

III.2.2. Aubergine

Les aubergines (*S. melongena L.*) de variété à fruit allongé, de couleur violette pourpre foncé à noir uniforme (Figure III.1-b), ont été achetées dans un supermarché local.



(a) Grignons d'olive pressés humide **(b)** Fruit d'aubergine

Figure III.1. Matières premières étudiées

III.3. Préparation des matières premières

III.3.1. Séchage et broyage de grignons d'olive

Les grignons d'olive (GO) pressés ont tout d'abord été séchés dans une étuve (FD23-BINDER) à 40°C [223]. Ensuite, la masse séchée a été broyée finement à l'aide d'un moulin à café puis passée à travers un tamis (Endocotts LTD, London, England), dont les mailles mesurent 0,63 mm (taille de particules). La poudre obtenue a été ensuite conditionnée dans des bocaux en verre (Figure III.2-a) et stockée dans un congélateur jusqu'à leur utilisation.

III.3.2. Épluchage et découpage des aubergines

Dès la réception des aubergines au laboratoire, elles ont été lavées avec de l'eau distillée puis épluchées (Figure III.2-b). Les pellicules et les pulpes ont été découpées en petits morceaux ($1\times1cm^2$) en utilisant une paire de ciseaux (Figure III.2-c). Elles serviront pour l'extraction de composés phénoliques et pour éviter leur dégradation pendant le stockage, les aubergines ont été fournies chaque jour et ont été utilisées juste après découpage.



(a) Poudre du grignon d'olive **(b)** Aubergine épluchée **(c)** Pellicules et pulpes découpées

Figure III.2. Matières premières préparées

III.4. Valorisation des grignons d'olive en produits énergétiques

Le procédé d'estérification/trans-estérification en deux étapes a été proposé pour convertir la biomasse des grignons d'olive en vecteurs énergétiques.

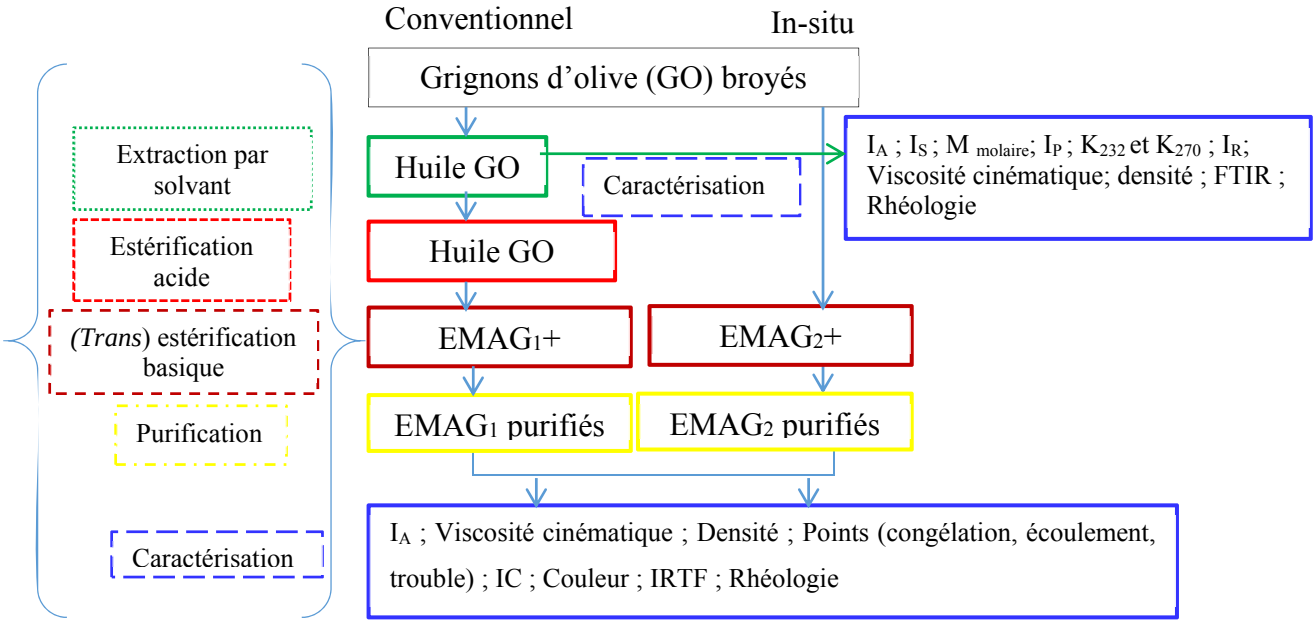


Figure III.3. Démarche expérimentale adoptée.

Comme l'indique la Figure III.3, ce traitement chimique peut être appliqué de deux manières différentes. Il s'agit de produire de biodiésel à partir de l'huile du grignon d'olive pré-extraite par solvant (méthode indirecte ou conventionnelle), d'une part, et de la biomasse séchée de grignon d'olive sans passer par l'étape d'extraction d'huile, d'autre part (méthode directe ou in-situ).

III.4.1. Extraction de l'huile de grignons d'olive par Soxhlet

L'extraction de l'huile du grignon d'olive (HGO) a été réalisée par la méthode de Soxhlet en adoptant la méthode NF V 03-908 [224]. Toutes les étapes suivies pour obtenir l'HGO brute sont illustrées dans la Figure III.4.

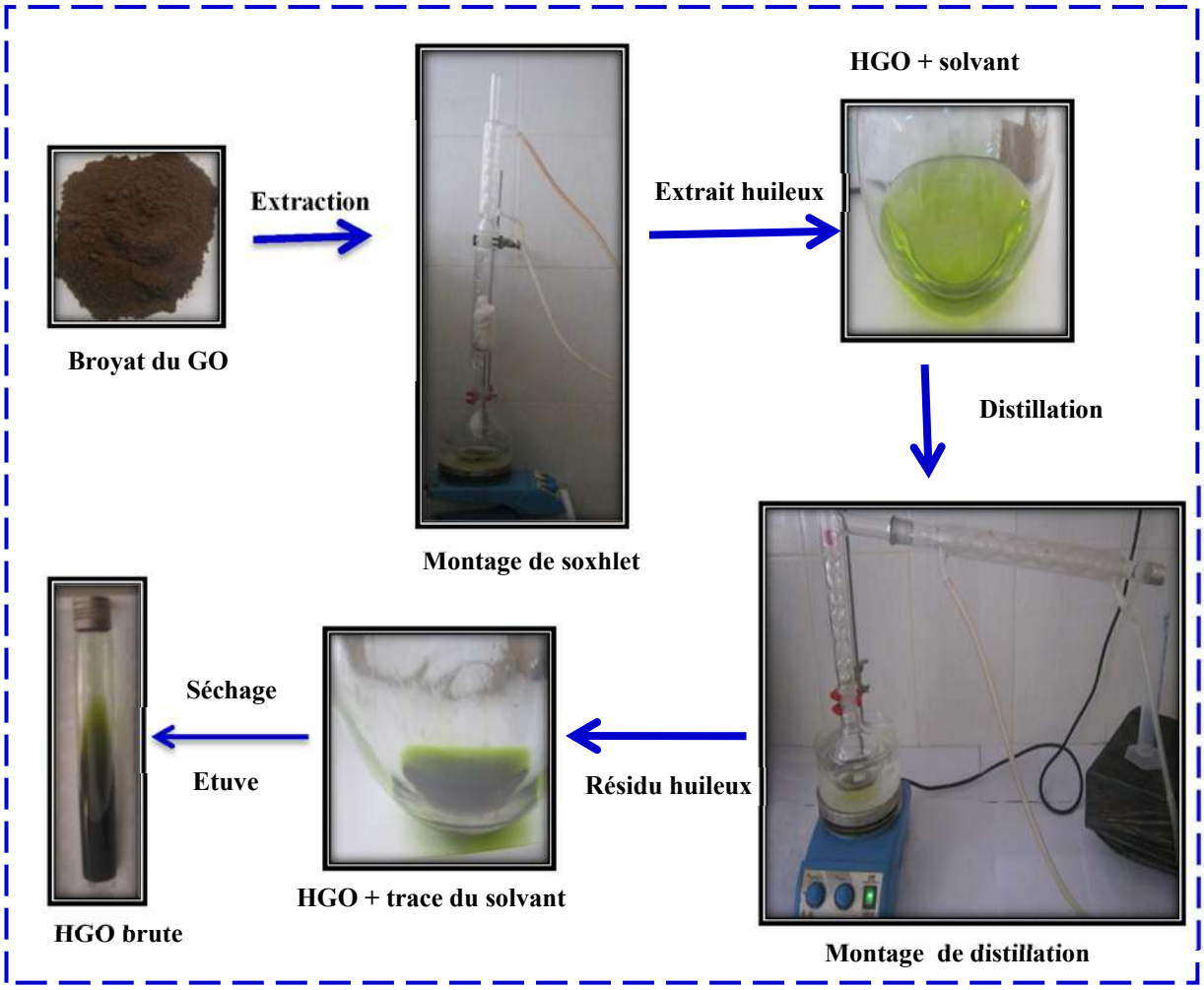


Figure III.4. Protocole d'extraction et purification de l'HGO

Une masse du grignon d'olive broyée a été placée dans une cartouche de cellulose, elle-même insérée dans l'extracteur Soxhlet. Approximativement, 300 ml de n-hexane ont été ajoutés au ballon d'extraction qui a été relié à l'extracteur. Le solvant est porté à ébullition (69°C sous pression atmosphérique), s'évapore, condense sur les parois du réfrigérant et retombe dans la cartouche immergée dans le solvant solubilisant l'huile grâce à sa grande

miscibilité dans le n-hexane. Lorsque la cartouche est pleine, le solvant riche en huile tombe dans le ballon à travers le siphon (vidange du Soxhlet). Dans le ballon, le solvant s'évapore et l'huile reste dans le ballon et un nouveau cycle d'extraction commence. Après plusieurs siphonages (trempage/lessivage) et environ 06 heures d'extraction, on enlève le ballon contenant l'huile et le solvant et on élimine ensuite le solvant par distillation. Après séparation de deux liquides, le ballon contenant le résidu huileux est mis dans une étuve à 60°C pendant 24 h afin de la purifier.

III.4.2. Production de biodiesel par estérification/trans-estérification en deux étapes

En se basant sur les limites de l'acidité libre publiées dans la littérature, le procédé d'estérification/trans-estérification en deux étapes a été utilisé pour produire du biodiesel à partir des matières grasses végétales à très hautes acidités [3-5].

L'étape de pré-estérification des acides gras libres par un acide fort est conseillée dans notre cas à cause de l'acidité élevé d'HGO extraite avant de passer à la trans-estérification par une base [224].

Les deux étapes ont lieu dans un ballon à double cols d'une capacité de 500 ml, auquel est adapté un réfrigérant pour éviter l'évaporation d'alcool. Le ballon a été immergé dans un bain d'eau chauffé utilisant un agitateur magnétique menu d'une plaque chauffante (Velp Scientifica). La sonde d'un thermomètre est introduite à travers le col du ballon à l'aide d'un bouchon en caoutchouc qui assure l'étanchéité (Figure III.5).



Figure III.5. Montage de chauffage à reflux

III.4.2.1. Estérification par un acide

a/ Estérification de l'HGO extraite (conventionnelle)

Dans la première étape de transformation de l'huile du grignon d'olive en biodiesel, une quantité de 1% du mélange H_2SO_4/méthanol (m/m, huile) a été ajouté à l'HGO (Figure III.6-

A), préchauffée à la température de la réaction (60°C) puis mélangée sous agitation magnétique de 600 tours/min durant 1 heure. Le rapport molaire HGO/méthanol a été fixé à 1:8 [224].

b/Estérification du broyat des grignons d'olive (in-situ)

L'estérification directe est un processus qui associe la masse du grignon d'olive avec un solvant et un alcool/catalyseur sans extraction préalable d'huile.

Une masse du broyat GO est placée dans un ballon de 500 ml. Puis un volume de l'hexane et de la solution (H_2SO_4/MeOH) sont ajoutés (Figure III.6). Sous agitation magnétique de 600 trs/min, le mélange est chauffé à 60°C durant 60 min. La pré-estérification des GO a été réalisée dans des conditions opératoires identiques à savoir le rapport massique H_2SO_4/méthanol de 1% (m/m, huile) et un rapport molaire HGO/méthanol de 1:8. A la fin des réactions, le mélange réactionnel a été laissé refroidir à température ambiante et centrifugé. La phase organique des esters a été collectée et versée dans une ampoule à décantation puis lavée avec de l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un pH neutre dans l'eau du dernier lavage.

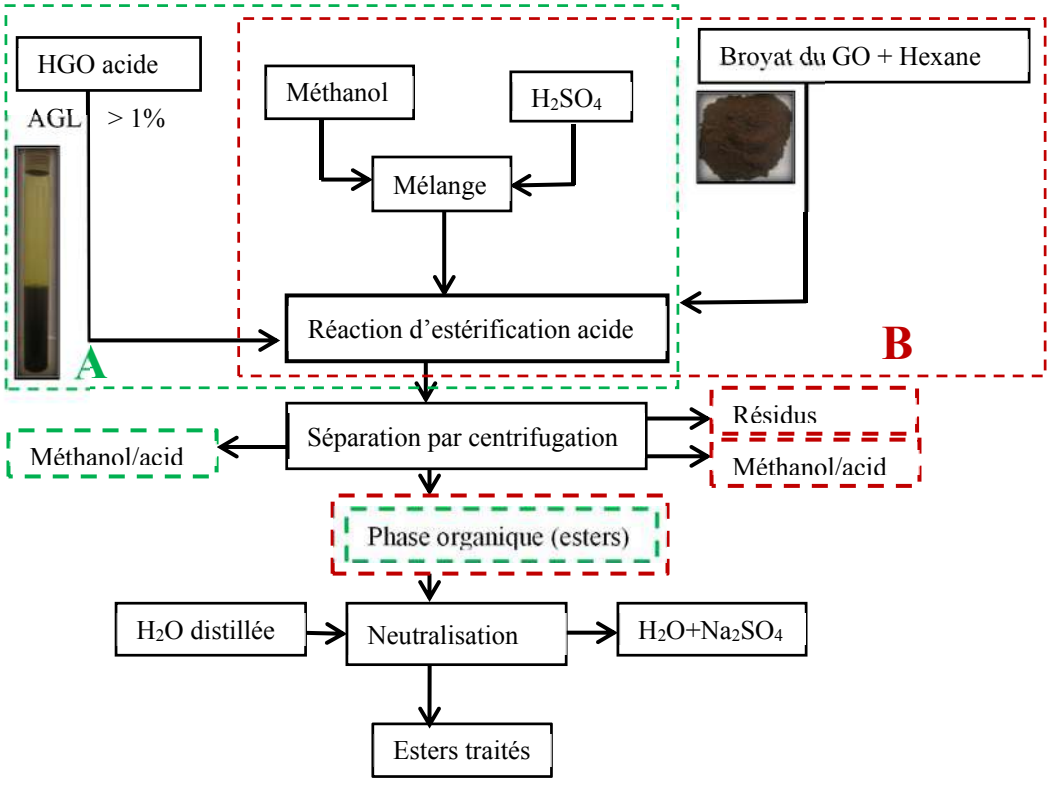


Figure III.6. Diagramme d'estérification de l'HGO (A) et du GO (B).

Les esters lavés ont été récupérés et séchés avec des sulfates de sodium (Na_2SO_4) puis filtrés [2,6] et ils seront prêts au calcul de l'acidité d'huile traitée et le taux de la conversion des acides gras libre en esters méthyliques.

Le taux de conversion a été calculée en utilisant l'Eq.III.2 [46] qui est défini comme le pourcentage des acides gras libres (AGL) convertis en esters méthyliques des acides gras (EMAG), divisé par le contenu initial en AGL (%).

$$\text{Conversion (\%)} = \left(\frac{N_i - N_f}{N_i}\right) \times 100 \qquad \text{(Eq. III.1)}$$

Où N_i est la teneur en AGL au début de la réaction (%) et N_f est la teneur en AGL à la fin de la réaction (%).

III.4.2.2. Trans-estérification par une base

Dans un erlenmeyer, on dissout le catalyseur (KOH) dans le méthanol à l'aide d'un agitateur magnétique avec un chauffage léger. Lorsque le catalyseur est totalement dissout on les verse dans le ballon contenant les esters traitée obtenus à partir l'HGO ou les GO broyés (Figure III.7).

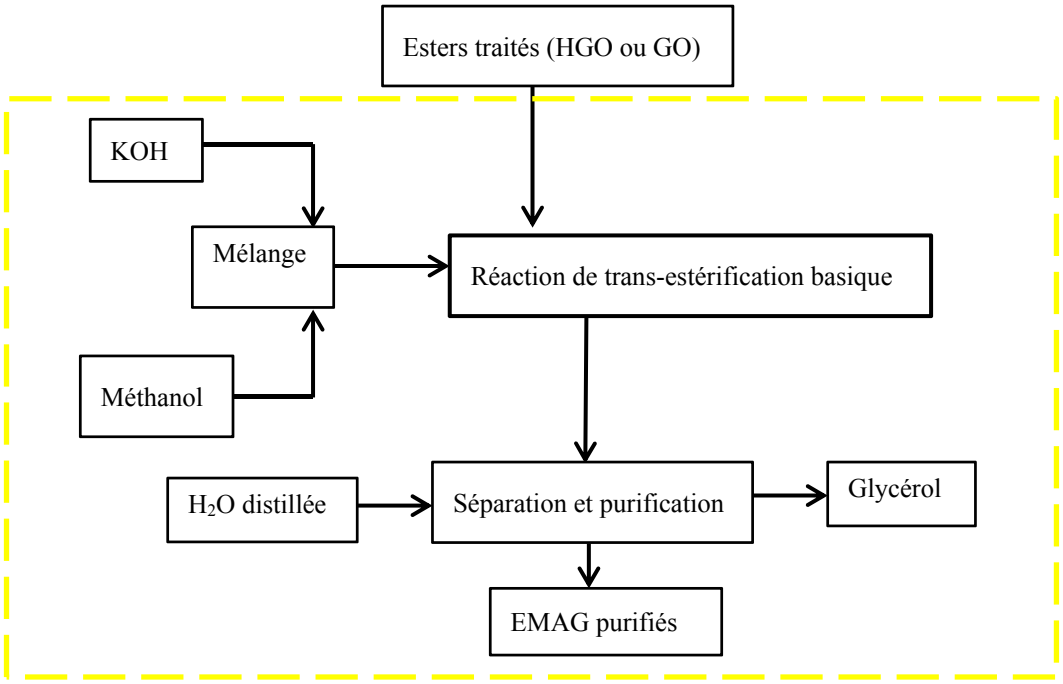


Figure III.7. Diagramme de trans-estérification de l'HGO et du GO

Les paramètres de la réaction ont été fixés comme suit [224] :

→ La quantité de catalyseur était de 1% de la masse de l'HGO ;

→ Le rapport molaire HGO/ méthanol était 1:6 ;

→ La durée de la réaction était 80 min ;

→ La température de la réaction initiale était de 60°C ;

→ La vitesse d'agitation magnétique était de 600 tours/min.

III.4.3. Séparation des phases et purification des esters méthyliques

Les principales étapes de la séparation et purification du biodiesel sont illustrées dans la Figure III.8 [228]. A la fin de l'étape de trans-estérification, le mélange réactionnel a été laissé au repos pendant une heure pour que son contenu se dépose. Une quantité de l'eau a été ajoutée au contenu du ballon afin de faciliter la séparation des composants hydrophiles de l'extrait, puis transféré dans une ampoule à décanter. La glycérine qui est immiscible avec les esters se dépose au fond de l'ampoule (phase inférieure). Cette dernière a été récupérée pour extraire toute trace des esters méthyliques laissés dans cette phase en utilisant l'hexane.

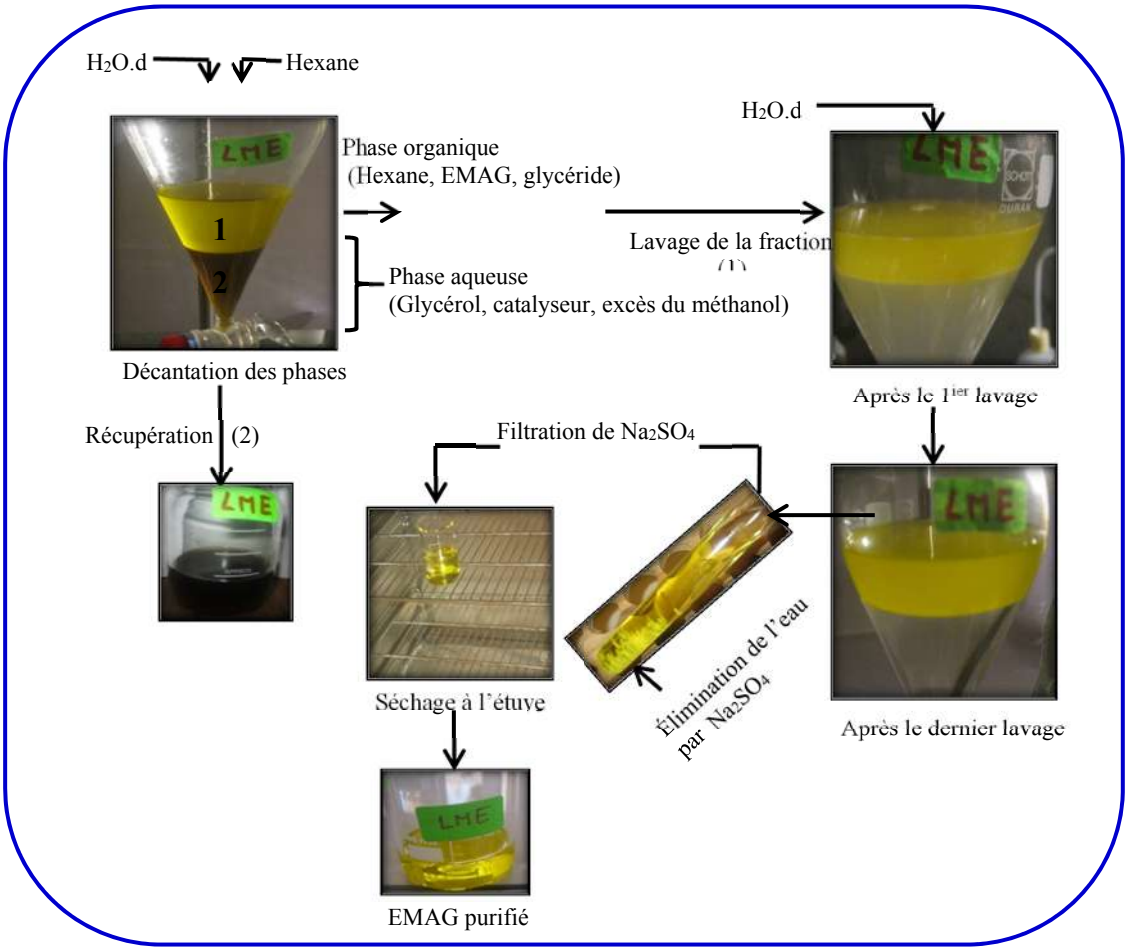


Figure III.8. Représentation des étapes de séparation et purification des esters éthyliques.

Les extraits d'hexane et la phase supérieure contenant les esters méthyliques ont été combinés pour purifier par un lavage à eau (afin de se débarrasser de l'excès d'alcool et des traces de catalyseur qui y restent). On répète le lavage plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un pH neutre dans l'eau du dernier lavage.

Le biodiesel lavé a été séparé de l'eau et séché avec des sulfates de sodium anhydre puis filtré et séché à l'étuve pour obtenir les rendements en esters méthyliques des acides gras (EMAG).

On définit le rendement des biodiesels produits comme étant la masse des esters méthyliques obtenus divisée par la masse initiale de l'huile utilisée ($EMAG_1$) [46] ou par la masse du GO multipliée par son contenu en huile ($EMAG_2$) [229].

$$R_{EMAG1}\ (\%) = \left(\frac{\text{masse EMAG1 (g)}}{\text{masse initiale de l'huile (g)}}\right) \times 100 \qquad \text{(Eq. III.2)}$$

$$R_{EMAG2}\ (\%) = \left(\frac{\text{masse EMAG2 (g)}}{\text{masse GO (g)} \times \text{contenu en huile (\%)}}\right) \times 100 \qquad \text{(Eq. III.3)}$$

Où $EMAG_1$ est l'ester méthylique d'acide gras de la trans-estérification d'HGO et, $EMAG_2$ est l'ester méthylique d'acide gras de la trans-estérification du GO broyé.

III.5. Valorisation de la biomasse d'aubergines en bioproduits

L'objectif de cette deuxième partie de ce chapitre est l'extraction de composés phénoliques à partir de la pellicule et de la pulpe d'aubergine. Dans un premier temps, les conditions d'extraction des composés phénoliques par diffusion des pellicules et des pulpes d'aubergine découpées ont été optimisées. Les effets du pH du solvant, de la teneur en éthanol dans l'eau et de la température sur le rendement en composés phénoliques ont été étudiés et comparés avec le procédé de référence (prétraitement par broyage + diffusion). Puis, une deuxième étude axée sur l'application des ultrasons comme un prétraitement alternative au broyage. On s'intéresse, plus particulièrement, à l'effet du temps des ultrasons sur la quantité des composés phénoliques extraites et la qualité biochimique des extraits obtenus par découpage des échantillons + US + diffusion. Le but ici est d'augmenter les rendements d'extraction et de réduire le temps de diffusion.

Le chemin suivi pour la récupération de composés phénoliques existants dans l'aubergine comporte plusieurs étapes comme le montre dans le schéma de la Figure III.9.

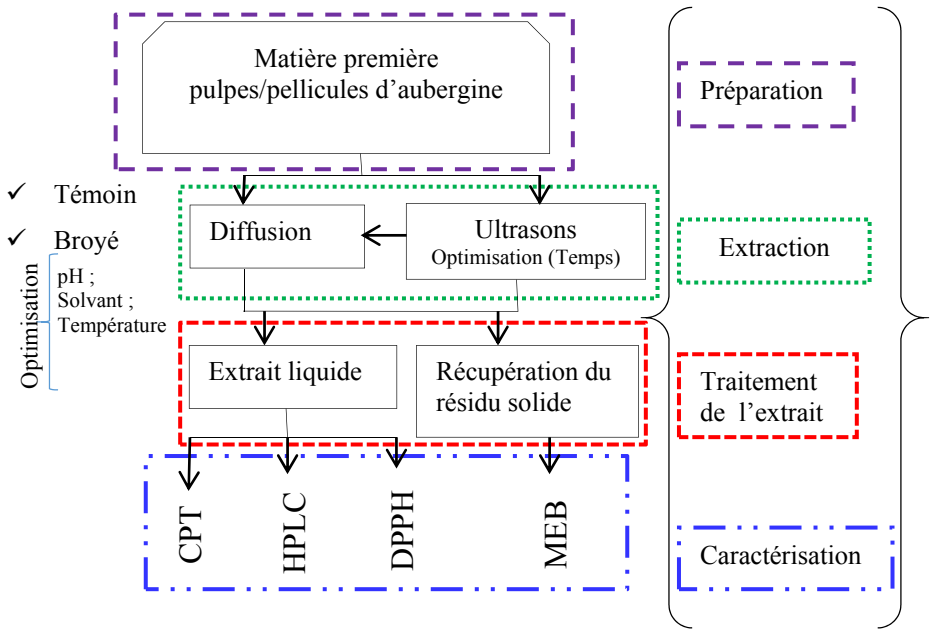


Figure III.9. Protocole expérimental suivi pour la récupération des composés phénoliques

III.5.1. Optimisation des paramètres opératoires influençant l'extraction conventionnelle des composés phénoliques

III.5.1.1. Extraction à partir de biomasse découpée en morceaux

Les morceaux de la pulpe et de la pellicule ont été utilisées à l'état frais, c'est-à-dire qu'ils n'ont pas subi d'opération de séchage. L'influence du pH a été étudiée en utilisant trois solutions aqueuses à différents pH, à savoir eau distillée (pH = 7), eau avec 0,01M HCl (pH = 2) et 0,01M NaOH (pH = 12). L'influence de la composition du solvant a été étudiée en faisant varier la teneur en éthanol dans des mélanges éthanol-eau de 0, 50, 75, et 100% (v/v). Les expériences ont duré 1 h avec une vitesse d'agitation de 150 tours/min, une température et un ratio fixe de 25°C et de 1/10 (m/m) respectivement. L'influence de la température a été étudiée à 25, 50, 75 et 100°C en utilisant l'eau acidifiée comme solvant d'extraction. Les morceaux des (pulpes /pellicules) ainsi que le solvant ont été introduits dans une série de fioles avec un rapport de 1/10 (m/m). Elles ont été ensuite placées dans un incubateur sous agitation avec une vitesse de 150 tours/min pendant 60 min.

III.5.1.2. Extraction à partir de la biomasse non-découpée (broyée)

Le broyage est une méthode de référence et une des opérations de fragmentation mécaniques la plus utilisée pour réduire la taille des particules [230]. Elle présente l'avantage d'extraire le maximum de composés phénoliques (extraits concentrés).

La biomasse fraîche (pulpe/pellicule) a été broyée en présence du solvant d'extraction grâce à un broyeur électrique (Bamix M140, Swisse). Ensuite, une extraction par diffusion a été réalisée sous les mêmes conditions (pH, solvant, température) avec des biomasses non-broyées.

À la fin de toutes les opérations d'extraction, les extraits liquides finaux obtenus ont été centrifugés pendant 10 min, 10,000 tours/min pour séparer les particules solides de l'extrait. Le surnageant a été récupéré pour l'analyse.

III.5.2. Optimisation du temps d'extraction assistée par ultrasons

Les expériences d'extraction assistée par ultrasons ont été réalisées dans un appareil à ultrasons à l'échelle laboratoire (Hielscher GmbH, Stuttgart, Allemagne), équipé d'un générateur (UP400S) relié à une sonde à ultrasons en titane (H14, Hielscher GmbH, Allemagne) d'un diamètre de 22 mm et de longueur maximale immergée de 90 mm (longueur totale : 100 mm) et tous placés dans une chambre (190 x 200 x 130 mm).

Le générateur à ultrasons fonctionne à une fréquence maximale de 24 kHz (cycle de 0 à 1s) et une puissance maximale de 400 W (amplitude allant de 20 à 100 %). La Figure III.10 présente une photo du générateur d'ultrasons à sonde utilisé lors des expériences d'extraction assistée par ultrasons (EAU).

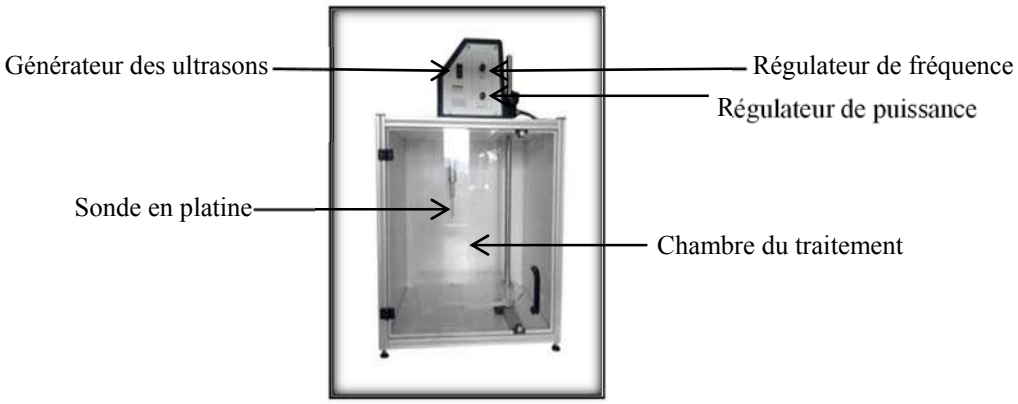


Figure III.10. Générateur des ultrasons à sonde

Le traitement par ultrasons (US) a été appliqué pour l'extraction des composés phénoliques à partir des morceaux de pulpe et de pellicule d'aubergine ($1\times1 cm^2$). Les morceaux de biomasse fraîche ont été introduits avec l'eau acidifiée à pH 2 dans un bécher avec un ratio liquide-solide de 10. Le bécher a été placé dans la chambre du traitement. La sonde a été immergée dans la suspension à traiter, placée au centre du bécher.

La sonication a été appliquée à la fréquence de 12 kHz et à la puissance de 100 W (puissance maximale fournie par le générateur à ultrasons). L'influence du temps a été étudiée en menant les expériences durant 10,20 et 30 min sans aucun contrôle de la température. Après les

traitements, une diffusion supplémentaire (+ES) a été réalisée à 25°C sous agitation de 150 tr/min. Le temps total du procédé d'extraction (traitement US + diffusion) est égal à 60 min.

A la fin de la diffusion, le solide et le liquide sont séparés. Le liquide est centrifugé et le surnageant est récupéré pour analyser. Tandis que le résidu solide est collecté puis séché à température ambiante avant la caractérisation structurale des pellicules.

III.6. Techniques d'analyse et de caractérisation

III.6.1. Analyses des solides (matières premières)

III.6.1.1. Matière sèche

La mesure de la matière sèche de la biomasse des grignons d'olives a été réalisée par séchage de l'échantillon de 10 g dans une étuve ventilée (FD23-BINDER) à 105 ± 2°C jusqu'à un poids constant (Figure III.11-a).

La matière sèche (MS) est exprimée en pourcentage (%) par la formule III.4:

$$\text{MS}\ (\%) = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \qquad \text{(Eq.III.4)}$$

La matière sèche des pulpes et des pellicules d'aubergine a été déterminée directement par séchage d'une masse fraiche de 500 mg jusqu'à sa stabilisation en utilisant un dessiccateur à infra-rouge couplé à une balance Sartorius de type SR2200 (Figure III.11-b). La température de mesure est fixée à 105 °C. Les résultats sont affichés en pourcentage d'humidité H (%).

Le pourcentage de matière sèche est déduise en appliquant l'équation suivante :

$$\text{MS}\ (\%) = 100 - \text{H}\ (\%) \qquad \text{(Eq. III.5)}$$



(a) Étuve ventilée



(b) Analyseur d'humidité

Figure III.11. Appareils pour mesurer la matière sèche des matières premières

III.6.1.2. Teneur des grignons d'olive en lipides totaux

La teneur en matière grasse est obtenue par extraction épuisante à l'hexane dans un appareil de type Soxhlet. Le protocole opératoire a été décrit en détail dans le paragraphe de la section

III.4.1.1. A la fin d'extraction, la masse de l'huile des GO purifiée est déterminée par gravimétrie selon la méthode directe qui consiste à peser le bécher contenant l'huile.

La teneur en lipide totaux des GO ($T_{lipides}$) est définit comme étant la masse de l'huile extraite divisée par la masse initiale du grignon d'olive utilisé dans l'extraction selon la formule III.6.

$$T_{lipides}\,(\%, m) = \frac{\text{masse l'huile extraite (g)}}{\text{masse initiale du grignon d'olive (g)}} \times 100 \qquad \text{(Eq. III.6)}$$

III.6.2. Analyses des liquides

III.6.2.1. Caractérisation physico-chimiques de l'huile des grignons d'olives extraite

a/ Indice d'acide

L'indice d'acide (I_A) est la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) en milligrammes nécessaires pour neutraliser l'acidité libre contenue dans 1 gramme de matière grasse. Cet indice donne une évaluation de la teneur en acides gras libres contenus dans l'huile.

L'indice d'acide a été déterminé en utilisant le Règlement Européen (CEE) N°2568 (1991). On dissout 500 mg d'HGO dans un mélange éthanol/éther diéthylique (1:1, v/v) puis on ajoute 4 à 5 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur coloré. L'ensemble est titré à température ambiante sous agitation magnétique avec une solution d'hydroxyde de potassium 0.1 N jusqu'à ce que le mélange devienne rose.

L'indice d'acide noté se détermine comme suit :

$$I_A\,(\text{mg KOH/g huile}) = \frac{M_{KOH} \times V_{KOH} \times N_{KOH}}{m_{huile}\ \text{en gramme}} \qquad \text{(Eq. III.7)}$$

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres exprimé en pourcentage d'acide oléique

$$\text{Acidité (\% acide oléique)} = \frac{IA \times M_{\text{acide oléique}}}{M_{KOH}} \times 100 \qquad \text{(Eq. III.8)}$$

Où I_A est l'indice d'acide (mg KOH/g), M_{KOH} est la masse molaire de KOH (56,11 g/mol), V_{KOH} est le volume de KOH (ml) nécessaire à neutralisation des acides gras libres, N_{KOH} est la normalité de la solution KOH (0,1N) et, $M_{acide\ oléique}$ est la masse molaire d'acide oléique (282 g/mol).

b/ Indice de saponification

L'indice de saponification est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres (RCOOH) et saponifier les triglycérides (comportant trois fonctions esters) existants dans 1g de matière

grasse. Ce paramètre est un indicateur de la quantité d'acides gras totaux présents dans un corps gras.

L'indice de saponification a été déterminé en utilisant la norme AOAC 920:160 (1997). À 500 mg de l'HGO pesé dans un erlenmeyer, on ajoute 20 ml de solution de potasse alcoolique (0.2 N). L'erlenmeyer est adapté à un réfrigérant à eau et l'ensemble est porté à ébullition pendant 30 min. Pendant ce temps on titre 20 ml de potasse alcoolique par HCl 0,5 N en présence de phénolphtaléine (essai blanc). On refroidit l'échantillon à l'eau courante et on titre l'excès de KOH par une solution d'acide chlorhydrique HCl (0,5 N) en présence de phénolphtaléine.

L'indice de saponification (I_S) est exprimé par la formule III.9 :

$$I_S\,(\text{mg}_{KOH}/\text{g}_{huile}) = \frac{M_{KOH}\times(V_0-V)\times N_{HCl}}{m_{huile}\ \text{en gramme}} \qquad \text{(Eq. III.9)}$$

Où I_S est l'indice de saponification (mg KOH/g), V_0 est le volume de HCl nécessaire pour titrer le blanc (ml) et, V est le volume de HCl nécessaire pour titrer l'échantillon (ml).

c/ Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans 1 kilogramme d'huile (meq O_2 /kg $_{huile}$). Ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation des huiles.

L'indice de peroxyde (I_P) a été déterminé en utilisant le Règlement Européen N°2568 (1991), en procédant à la dissolution de 1g d'HGO dans 10 ml de chloroforme. On ajoute 15 ml d'acide acétique pur et 1 ml de la solution d'iodure de potassium KI saturée, on bouche le flacon et on agite pendant 1 min et laisser reposer pendant exactement 5 min à l'abri de la lumière et à température ambiante. On ajoute 75 ml d'eau distillée et 1 ml d'une solution d'empois d'amidon (une couleur violette apparaît) comme indicateur coloré. L'iode libéré est titré sous agitation avec la solution de thiosulfate de sodium $Na_2S_2O_3$ 0.01 N jusqu'à la disparition de la couleur violette. Un essai témoin (sans matières grasses) est réalisé dans les mêmes conditions.

L'indice de peroxyde (I_P) est donné par la formule III.10:

$$I_p\,(\text{meq O2 /kg}_{huile}) = \frac{(V-V_0)\times N\times 1000}{m_{huile}\ \text{en gramme}} \qquad \text{(Eq. III.10)}$$

Où I_p est l'indice de peroxyde (meq O_2/kg $_{huile}$), V_0 est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour titrer le blanc, V est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour titrer l'essai et, N est la normalité de la solution de thiosulfate de sodium.

d/ Analyse spectrophotométrique dans l'Ultra-Violet

L'examen spectrophotométrique peut fournir des indications sur la qualité des huiles via la détection des produits primaires et secondaires d'oxydation (qui absorbent des rayonnements UV à 232 nm et 270 nm, respectivement) des acides gras insaturés.

Les coefficients d'extinction spécifique K_{232} et K_{270} ont été déterminées sur une solution à 1% (m/v) en appliquant le Règlement Européen N°2568 (1991). Pour ce faire, 10 mg de l'HGO est dissout dans 10 ml de l'hexane avec homogénéisation (Vortex). L'absorbance spécifique à 232 (K_{232}), et à 270 nm (K_{270}) ont été mesurés par spectrométrie UV-Visible GBC (modèle CINTRA 303). La lecture a été faite dans des cuves de quartz, avec couvercle, de parcours optique de 1 centimètre.

Les valeurs d'extinctions spécifiques à 232 nm et 270 nm sont calculées selon l'Eq.III.11.

$$K_\lambda = \frac{A_\lambda}{C \times S} \qquad \text{(Eq. III.11)}$$

Où K_λ est l'extinction spécifique à la longueur d'onde λ, A_λ est l'absorbance à la longueur d'onde λ, C'est la concentration de la solution en g/100 ml et, S est l'épaisseur de la cuvette en centimètres (1 cm).

e/ Estimation de la masse molaire moyenne

La masse molaire moyenne de l'HGO est un paramètre clé entrant dans les calculs des rapports molaires qui sont nécessaire pour les réactions d'estérification/tran-estérification.

Les indices chimiques d'une huile a permis de déterminer sa masse molaire moyenne, déduite à partir de son indice de saponification (I_S) pour une huile neutre [231] par la formule III.12 et à partir de ses indices d'acide (I_A) et de saponification (I_S) pour une huile acide [11-13] par l'équation.III.13.

$$MM_{moy}\ (g.mol^{-1}) = \frac{56{,}1 \times 1000 \times 3}{I_S} \qquad \text{(Eq. III.12)}$$

$$MM_{moy}\ (g.mol^{-1}) = \frac{56{,}1 \times 1000 \times 3}{I_S - I_A} \qquad \text{(Eq. III.13)}$$

Où MM_{moy} est la masse molaire moyenne d'huile ($g.mol^{-1}$).

f/ Indice de réfraction

L'indice de réfraction (I_R) a été déterminé à 20 °C par un réfractomètre de marque Abbe, préalablement étalonné par l'eau distillé en utilisant la norme AOAC 921:08 (2000).

Les prismes sont ensuit essuyés avec un chiffon propre et quelques gouttes d'huile ont été déposées entre les deux faces des prismes. A l'aide de l'oculaire et le bouton de réglage,

l'interface entre la zone sombre et éclairée est amené au centre du réticule. Les irisations sont supprimées pour obtenir une ligne nette entre les deux zones. Puis la valeur de l'indice est notée par l'échelle de lecture.

g/ Densité

La densité de l'HGO a été mesurée à l'aide d'un densimètre portable électronique Densito 30PX (Mettler Toledo, France) calibré, avec une plage de mesure de 0 à 2 g/cm^3 dans une gamme de températures allant de 0 à 40 °C (Figure III.12).

Cette analyse a été réalisée au niveau du laboratoire d'analyses fonctionnelles et procédées chimiques à l'université de Blida.

Ce densimètre suffit d'une simple pression du pouce pour le faire fonctionner. Pour la mesure, le tuyau de l'appareil plonge dans l'huile pour l'aspirer avec l'élimination des bulles d'air, l'origine de mauvais résultats, qui peuvent se former lors du remplissage de la cellule de mesure. Une fois rempli, il ne lui faut que quelques secondes pour afficher la densité (en g/cm^3) de l'huile testée.



Figure III.12. Densimètre portable électronique

h/ Viscosité cinématique

La viscosité de l'HGO a été déterminée à 40°C en utilisant un bain thermostaté (Thermocap–Fungilab) équipé de trois viscosimètres capillaires type Ubbelohde à différentes constantes (Figure III.13).

Ces mesures ont été réalisées au niveau du laboratoire de raffinage des hydrocarbures (FHC, Université de Boumerdes) en utilisant la méthode ASTM D445. Cette méthode consiste à mesurer le temps mis par un volume déterminé de liquide pour s'écouler, dans les conditions normalisées, par un capillaire calibré à température fixée.

Dans un premier temps, on règle la température du bain à 40°C et on attend la stabilisation (1). On remplit le viscosimètre (2) entre les deux repères puis le plonger dans le bain thermostaté (3). A l'aide d'une pompe manuelle (4), on aspire lentement le liquide au-dessus de la marque annulaire supérieure fermant simultanément le tube du viscosimètre avec le doigt, puis la retirer. L'huile commence à couler par gravité de la boule d'entrée à travers le capillaire dans la boule de mesure.

Quand le niveau du liquide arrive à la marque annulaire supérieure, on met en marche le chronomètre (5). On arrête le chronomètre quand le niveau du liquide atteint la marque annulaire inférieure. On note ensuite le temps (en secondes) de passage de l'huile de la première marque à la seconde.

La viscosité cinématique (υ) est calculée à partir du temps d'écoulement [235]:

$$\upsilon = K \times t \quad (mm^2.\ s^{-1}) \qquad \text{(Eq.III.14)}$$

Où υ est la viscosité cinématique, K est la constante du viscosimètre qui dépend de la taille du capillaire du viscosimètre utilisé et, t est le temps d'écoulement en secondes (s).

On préfère souvent utiliser le mm^2/s qui correspond à l'unité la plus connue de viscosité cinématique, à savoir le centistokes (cSt).

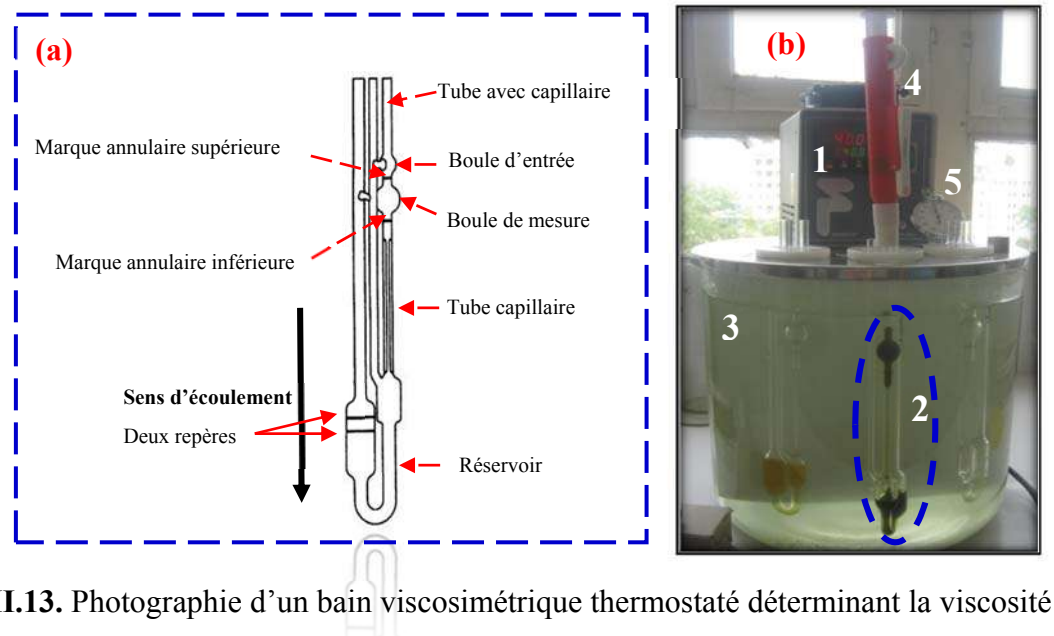


Figure III.13. Photographie d'un bain viscosimétrique thermostaté déterminant la viscosité cinématique (b) et schéma d'un viscosimètre à tube capillaire Ubbelohde (a)

III.6.2.2. Caractérisation physico-chimiques des biodiesels élaborés

L'indice d'acide, la densité ainsi que la viscosité cinématique des biodiesels obtenus ($EMAG_{HGO}$) et ($EMAG_{GO}$) sont déterminés selon les méthodes décrites précédemment pour l'HGO.

a/ Point d'éclair

Le point d'éclair des esters préparés est déterminé au moyen de l'appareil KARL KOLB semi-automatique Pensky-Martens en vase clos (Figure.III.14) au laboratoire de raffinage des hydrocarbures (FHC, Université de Boumerdes) en utilisant la méthode ASTM D93.

On nettoie le vase d'échantillon pour enlever tout résidu du test précédent. On remplit le vase avec l'échantillon jusqu'au niveau de remplissage indiqué, on l'installe dans l'appareil et le couvercle placé immédiatement sur le vase. Ensuite, on actionne l'agitateur et on fait chauffer l'appareil pour démarrer l'analyse. On insérer le thermomètre dans le porte thermomètre et on allume la flamme. L'échantillon est chauffé peu à peu et le point d'éclair est atteint quand les vapeurs qui s'échappent par le vase deviennent suffisamment riche en éléments volatils pour s'enflammer quand on déplace la flamme au-dessous de celle-ci après chaque incrément de 2°C. Dès qu'une légère explosion se produit, on note la température du produit, qui correspond au point recherché.



Figure III.14. Photographie d'un appareil mesurant le point d'éclair

b/ Points de congélation, d'écoulement et de trouble

La mesure de point trouble, de congélation et d'écoulement a été effectuée à l'aide d'un analyseur à bain réfrigérant (Figure III.15), au niveau du laboratoire de combustibles et lubrifiants (FHC, Université de Boumerdes).



Figure III.15. Analyseur des points trouble, congélation et écoulement

Le point d'écoulement représente la température la plus basse à laquelle un biodiesel peut encore s'écouler.

L'échantillon est réchauffé et introduit jusqu'au trait repère dans la jaquette, celle-ci est fermé avec un bouchon. On positionne le thermomètre verticalement et bien centré son capillaire à 3 mm aux dessous de la surface du liquide et on le refroidi ensuite progressivement avec des bains réfrigérants de plus en plus froids. L'observation des échantillons commence à une température de préférence supérieure de 9°C au moins au point d'écoulement présumé et on examine la jaquette toutes les fois que la température abaisse de 3°C.

On place la jaquette dans le bain de refroidissement (compartiment de-18°C). Si le liquide ne cesse pas de couler quand sa température atteint - 6°C, on transfère la jaquette dans le compartiment de -33°C. On refroidit encore, dès que le liquide ne coule plus lorsque la jaquette est inclinée (position horizontale pendant 5 secondes) comptées au chronomètre. Une fois que la surface de l'échantillon ne se déforme pas, on note la température affichée par le thermomètre, cela est défini comme le point de congélation (ASTM D-2386).

Le point d'écoulement s'obtient en ajoutant 3°C à cette température (ASTM D-97).

$$\text{Le point d'écoulement} = \text{le point de congélation} + 3°C \qquad \text{(Eq.III.15)}$$

Le point de trouble est la température à laquelle un biodiesel refroidi, dans des conditions d'essais prescrites, commence de former des premiers cristaux de cire solide.

On positionne le thermomètre verticalement tel qu'il touche le fond de la jaquette. La même procédure de refroidissement que celle décrite dans ASTM D-97 a été suivie et on examine la jaquette à chaque baisse de température de 1°C. On note la température à laquelle le liquide devient trouble, dû à la formation de cristaux au fond de la jaquette s'appelle le point de trouble (ASTM D-2500).

c/ Indice de cétane

Les caractéristiques de distillation ont été étudiées à l'aide d'un appareil de distillation manuel conformément à la procédure de la norme ASTM D 86, au niveau du laboratoire de combustibles et lubrifiants (FHC, Université de Boumerdes).

La méthode normalisée (ASTM D976) a été appliquée pour prédire l'indice de cétane (IC) des esters méthyliques d'acide gras préparés. Cette méthode utilise la densité en degré API (American Petroleum Institute) et une seule température d'ébullition (température de distillation) dans la gamme moyenne qui correspondant à 50% distillé selon la méthode ASTM D 86 [17,18].

L'Indice de Cétane calculé s'exprime par l'Eq.III.16 [17], [18]:

$$ICC = -420.34 + 0{,}016(\rho_{°API})^2 + 0.19\ \rho_{°API}\ (\log T_M) + 65.01(log T_M)^2 - 0.00018(T_M)^2 \quad \text{(III.16)}$$

Où : ICC est l'Indice de Cétane calculé, $\rho_{°API}$ est la densité en degré API;

$$\rho_{°API} = \left(\frac{141{,}5}{\rho_{15°}}\right) - 131{,}5 \quad \text{(III.17)}$$

$\rho_{15°}$ est la densité à 15°C en g/cm^3 ; T_M est la température d'ébullition moyenne (°F) correspondant à 50% distillé selon la méthode ASTM D 86.

L'Index diesel (ID) se définit par l'Eq.III.18 en utilisant la méthode ASTM-D311 [21]:

$$ID = \frac{PA\ (°F) \times °API}{100} \quad \text{(Eq.III.18)}$$

Où : PA (°F) est le point d'aniline en degré Fahrenheit;

$$PA\ (°F) = 1{,}8\ T(°C) + 32 \quad \text{(Eq.III.19)}$$

Il existe quelques formules empiriques qui relient l'indice de cétane à l'index diesel ou même directement au point d'aniline. On a choisi deux formules [22], [23], afin de calculer l'indice de cétane des esters ($EMAG_1$) et ($EMAD_2$):

$$IC = 0{,}72\ ID + 10 \quad \text{(Eq.III.20)}$$

$$IC = PA - 15{,}5 \quad \text{(Eq.III.21)}$$

d/ Couleur

La détermination de la couleur des esters synthétisé s'effectue à l'aide d'un colorimètre (Analis, Belgique), au niveau du laboratoire de combustibles et lubrifiants (FHC, Université de Boumerdes) en utilisant la méthode ASTM D1500. Le colorimètre comprenant un boîtier métallique avec un disque de couleurs étalon à 2 champs de vision, deux compartiments pour deux récipients, une source lumineuse (Figure III.16).



Figure III.16. Photographie d'un colorimètre comparative

On remplit le récipient avec l'ester puis on le place dans le colorimètre dans son compartiment. Ensuite le récipient est couvert pour exclure toute la lumière extérieure et on

alimente la source lumineuse. Grace à un bouton de réglage, on compare par transparence les esters testés à des étalons de verre coloré.

L'échelle varie de 0.5 à 8 par pas de 0.5 allant du plus clair au plus foncé (Figure III.17). Généralement, les biodiesels sont d'une teinte jaune clair correspondant à 1 ou 2 dans l'échelle de couleur [15,16].

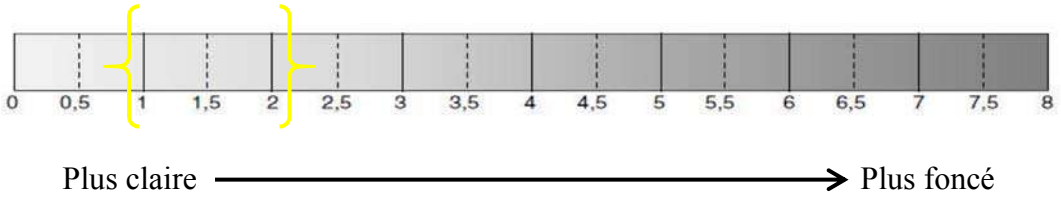


Figure III.17. Echelle de couleur

III.6.2.3. Caractérisation des extraits phénoliques

A/ Dosage des composés phénoliques totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu

La quantification de composés phénoliques dans les extraits de pulpes et de pellicules d'aubergine a été effectuée par une méthode colorimétrique, utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le protocole expérimental (Tableau III.1) utilisé est basé sur celui décrit par Ribéreau-Gayon [240] en y apportant quelques modifications.

Tableau III.1. Protocole expérimental de dosage Folin-Ciocalteu

	Blanc	Echantillon
Extrait dilué (µl)	_	200
H_2O distillée (µl)	200	_
Réactif du Folin, 10% (v/v) (µl)	1000	1000
Agiter, puis incuber pendant 5 min à température ambiante		
Na_2CO_3, 75g/L (µl)	800	800
Volume total (µl)	2000	2000
Agiter, puis incuber pendant 10 min à 50°C, mesurer l'absorbance à 750 nm.		

La même procédure a été répétée pour établir la courbe d'étalonnage à partir des solutions d'acide gallique (0-100 µg/ml). La concentration en composés phénoliques totaux [CPT] des extraits est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue pour chaque solvant d'extraction (Figure III.18).

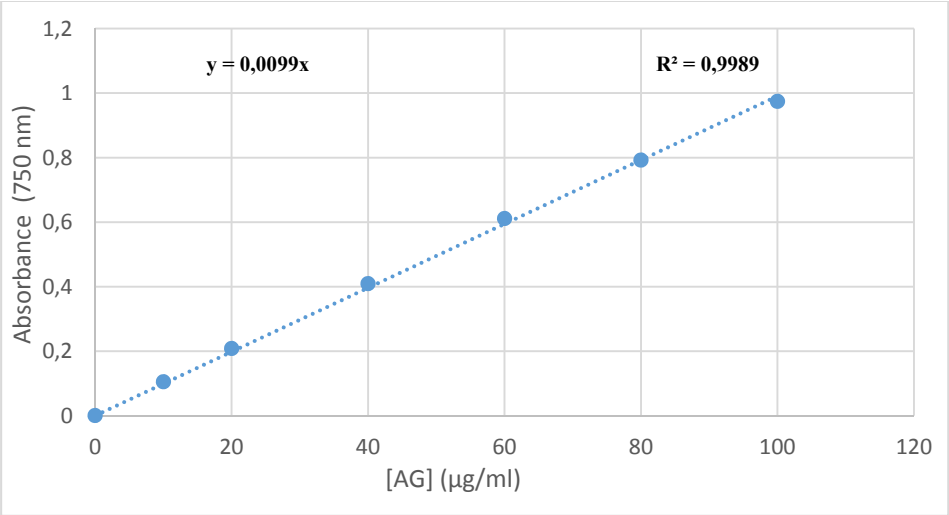


Figure III.18. Exemple de courbe d'étalonnage de l'acide gallique dans de l'eau

Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme de la masse fraiche de la matière première en appliquant l'Eq.III.22 à base humide et l'Eq.III.23 à base sèche.

$$[\text{CPT}]\ (\text{mg EAG/g}_{\text{MF}}) = \frac{[\text{C}]\times \text{FD}\times \text{V}}{m_F \times 1000} \qquad \text{(Eq.III.22)}$$

$$[\text{CPT}]\ (\text{mg EAG/g}_{\text{MS}}) = \frac{C_{\text{CPT}}\ (\text{mg EAG/g}_{\text{MF}})}{\text{MS}} \times 100 \qquad \text{(Eq.III.23)}$$

Avec :

$$[\text{C}](\mu\text{g EAG/ml}) = \frac{\text{Abs}_{750\text{nm}}}{\text{K}_{750\text{nm}}} \qquad \text{(Eq.III.24)}$$

Où [C] est la concentration en composés phénoliques obtenue à partir de la courbe d'étalonnage µg EAG/ml, FD est le facteur de dilution de l'extrait brut, V est le volume total du solvant d'extraction (ml), m_F est la masse fraiche de la matière utilisée dans l'extraction (g), MS est la masse sèche de la matière première, Abs_{750} nm est l'absorbance à 750 nm et K_{750} nm est la pente de la courbe d'étalonnage.

B/ Identification des composés phénoliques par chromatographie liquide haute performance

L'analyse chromatographique des extraits de la pellicule d'aubergine obtenus après un temps de traitement par ultrasons de 10, 20, 30 min et après une heure de diffusion (sans ultrasons) a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) dans le Laboratoire de Transformation Intégrée de la Matière Renouvelable (UTC, France). Le chromatographe utilisé est de type Ultimate 3000 (Dionex, Idstein, Allemagne) équipé d'un détecteur UV à barrette de diodes (DAD).

Le protocole suivi est adapté des travaux de [241]. En détail, la méthode utilisée est un gradient constitué d'eau-acide acétique (93:7, v/v) et d'eau-acétronitrile-méthanol-acide acétique (47:23:23:7, v/v) dont les proportions sont résumés dans le Tableau III.2.

Tableau III.2. Conditions du gradient d'analyse HPLC

Temps (min)	% Solvant A (eau-acide acétique) (93:7, v / v)	% Solvant B (eau-acétronitrile-méthanol-acide acétique) (47:23: 23:7, v / v)
0-1	95	5
1,01-50	0	100
50,01-60	95	5

La séparation a été réalisée à 25°C en phase inverse en utilisant une colonne Prontosil C18AQ (4,6 x 250 mm, 5 µm, Chromatographie de Bischoff, Allemagne). Les extraits ont été purifié à l'aide de filtre seringue de 0,45 µm, puis 20 µl ont été injectés dans la colonne HPLC. La longueur d'onde du détecteur a été réglée à 543 nm et le débit à 0,8 ml/min.

C/ Détermination de l'activité anti-oxydante par la méthode de DPPH

L'activité anti-oxydante des extraits de la pellicule d'aubergine obtenus après un temps de traitement par ultrasons de 10, 20, 30 min et après une heure de diffusion (sans ultrasons) a été évaluée par la mesure de l'activité anti-radicalaire suivant la méthode de DPPH. Le protocole expérimental est décrit dans le Tableau III.3 [242].

Tableau III.3. Protocole expérimental de dosage DPPH.

	Blanc	Echantillon
Extrait dilué (µl)	_	1000
Ethanol (µl)	1000	_
Solution éthanoïque du DPPH, (0,1mM)	1000	1000
Volume total (µl)	2000	2000
Agiter, puis incuber pendant 20 min à température ambiante et à l'obscurité, mesurer l'absorbance à 517 nm		

L'absorbance lue est transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin (sans extrait) par la formule III.25.

$$PI\ (\%) = \frac{Abs_0 - Abs_e}{Abs_0} \times 100 \qquad \text{(Eq.III.25)}$$

Où PI est le pourcentage d'inhibition (%), Abs_0 correspond l'absorbance de DPPH sans extrait et, Abs_e correspond l'absorbance de DPPH avec extrait ;

Pour mieux comprendre la réactivité de DPPH avec les différents extraits testés, le paramètre de la CI_{50} a été introduit. La valeur de la concentration inhibitrice CI_{50} représente la concentration des composés phénolique présente dans l'extrait testé qui cause la neutralisation de 50 % des radicaux de DPPH.

La CI_{50} a été estimée par extrapolation en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition PI (%) en fonction des concentrations (C) de l'extrait testé.

III.6.2.4. Caractérisation structurale des pellicules par microscopie électronique à balayage

Afin d'évaluer l'impact du temps d'extraction assistée par ultrasons sur la structure des échantillons traités, des résidus de pellicules d'aubergine ont été collectés après chaque procédé d'extraction (US_{10min}), (US_{20min}), (US_{30min}) pour des observations structurales en comparaison avec des témoins (US_{0min}= $Diff_{1h}$).

Après le séchage à température ambiante, les fragments des couches externe et interne de la pellicule ont été observés sous microscope de type Quanta SEM-FEG 250 (FEI, Oregon, USA), au laboratoire de Service d'Analyses Physico-Chimiques de l'UTC (France), avec une tension d'accélération de 20 kV et un grossissement de (×200).

III.6.2.5. Caractérisation spectrale des liquides huileux par Infra-Rouge à Transformée de Fourier

Les analyses ont été réalisées au niveau du Laboratoire Matériaux et Environnement (Université de Médéa). Les analyses FT-IR ont été réalisées avec un spectrophotomètre (Bruker, Tensor II) équipé d'un accessoire ATR Platinum (diamant mono-réflexion) comme décrit dans la Figure III.19.



Figure III.19. Photographie du spectrophotomètre Infra-Rouge à Transformée de Fourier.

Les huiles (HOV/HGO) et les esters élaborés ont été déposés directement sur le cristal diamant mono-réflexion sans aucune préparation de l'échantillon. Le domaine étudié est la région de vibration s'étendant de 4000 à 400 cm^{-1} à une résolution de 4 cm^{-1}. Un nombre de 10 scans a été réalisé sur chaque échantillon. L'acquisition des données ont été effectuées à l'aide du logiciel OPUS software.

III.6.2.6. Analyse rhéologique des liquides huileux

L'analyse rhéologique a été réalisée au niveau du Laboratoire d'Analyses Fonctionnelle des Procédées Chimiques (Université de Blida 1). Elle a été utilisée pour déterminer les caractéristiques d'écoulement des différentes huiles (HGO extraite et HOV commerciale), et celles des esters obtenus par traitement chimique de la biomasse des grignons d'olives broyés et son huile.

Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un rhéomètre Anton Paar MCR 302 (Figure II.20) en utilisant, pour l'ensemble des liquides huileux, une géométrie cône-plan (CP 60/1°). Cet appareil présente l'avantage de ne nécessiter que très peu de liquide (~1─2 ml de liquide est placé entre le cône et la partie fixe). De plus, le cisaillement est uniforme et constant entre les zones du cône et du plan. Il permet aussi de connaitre directement la viscosité apparente des liquides pour des vitesses de cisaillements comprises entre 10^{-3} et 10^{3} s^{-1}.

Dans notre cas, les valeurs de viscosité retenues sont pour une vitesse de cisaillement allant de 10^{0} à 10^{3} s^{-1}. Lors de ces essais, trente contraintes de cisaillement ont été appliquées (intervalles de mesure 1s). La viscosité des liquides a été mesurée à température ambiante (20°C) et à 40°C afin de déterminer leurs propriétés rhéologiques en fonction de ces deux températures.

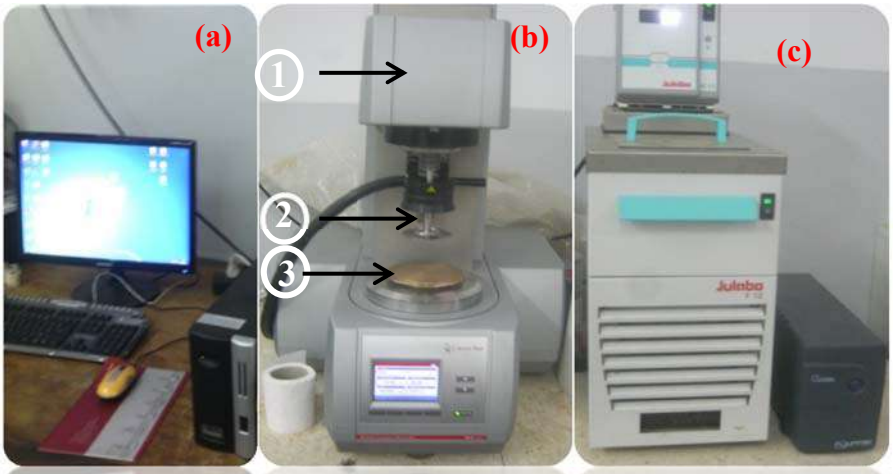


Figure III.20. Photographie du rhéomètre MCR 302 (b) avec (1) Stator, (2) Rotor et (3) plaque de contrôle de température Peltier. Micro-ordinateur d'acquisition (a) et Bain thermostaté (c).

III.7. Analyse statistique

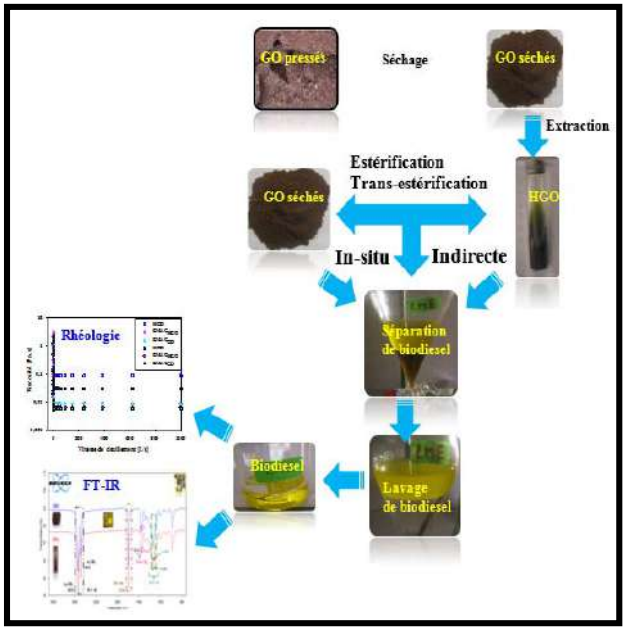
Toutes les expériences ont été répétées au moins deux fois, à l'exception de quelques caractéristiques du biodiesel qui ont été réalisées une seul fois. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyennes ± écart type. Les valeurs moyennes et les écarts types ont été calculés. Les barres d'erreur présentées dans les figures correspondent aux écarts-types calculés en utilisant le logiciel OriginPro8. La signification statistique des résultats a été effectuée par l'analyse des variances (ANOVA) suivie du test LSD, avec un niveau de signification de $p<0.05$.

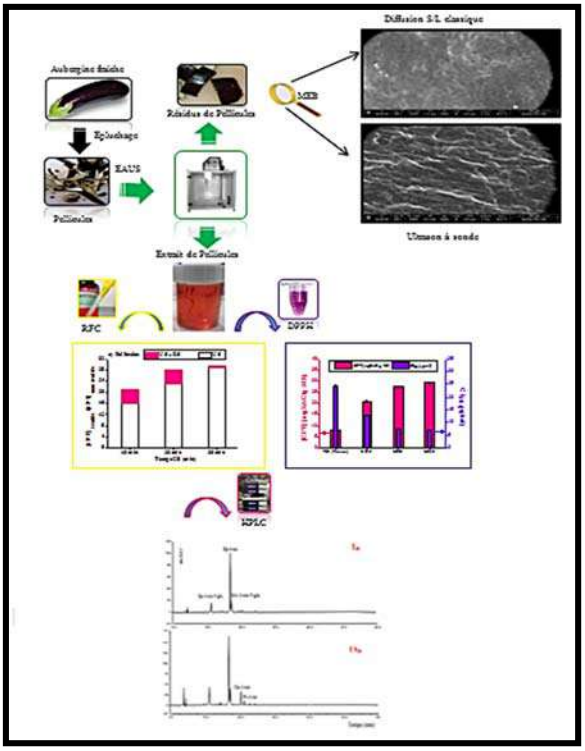
"Science sans conscience n'est que ruine de l'âme."

François Rabelais

Chapitre IV

RÉSULTATS ET DISCUSSION





IV.1. Introduction

Comme nous l'avons mentionné dans le chapitre précédent, deux types de sous-produits ont fait l'objet d'une étude approfondie dans le cadre de ce travail de recherche. Il s'agit d'une part du grignon d'olive, et d'autre part de la pellicule d'aubergine. Dans ce dernier chapitre, les résultats seront présentés en deux volets :

- le premier décrit les résultats obtenus pour les esters méthyliques d'acides gras (biodiesels) synthétisés à partir de la biomasse des grignons d'olive et son huile.
- le deuxième est constitué par les résultats du travail publié portant sur les extraits phénoliques des pellicules d'aubergine comparés à ceux des pulpes.

IV.2. Analyses des matières premières

IV.2.1. Teneur en matière sèche

La Figure IV.1 représente les teneurs en matière sèche des biomasses étudiées.

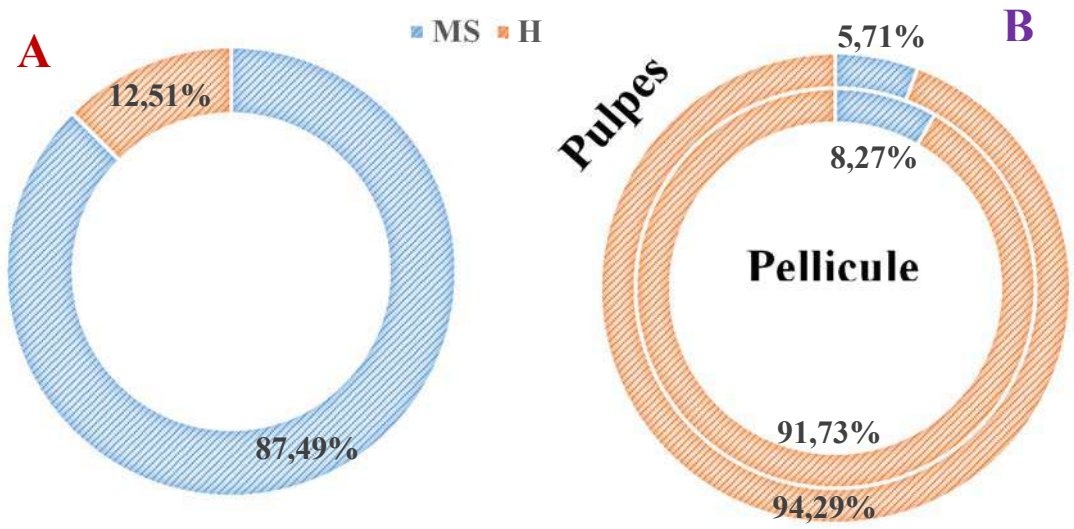


Figure IV.1. Teneurs en matière sèche des grignons d'olive (A), et de l'aubergine (pellicules/pulpes) (B).

Les résultats obtenus montrent que l'aubergine est riche en eau comparativement aux grignons d'olive. La teneur des grignons d'olive en matière sèche est remarquablement élevée (Figure IV.1-A). Ce résultat s'accorde bien avec le travail publié par Dermeche et *coll.* [20] qui ont estimé la teneur en MS entre 87,1 à 94,4 % pour des grignons d'olive pressés.

Les pellicules et les pulpes d'aubergine contiennent une faible teneur en matière sèche (Figure IV.1-B). Cela signifie que presque la totalité du poids de l'aubergine fraiche est constituée d'eau.

IV.2.2. Teneur des grignons d'olive en lipides totaux (%)

Le contenu lipidique des grignons d'olive a été déterminé par la méthode de Soxhlet. La biomasse des grignons d'olive présente 15,19± 0.23% d'huile résiduelle à base de la matière sèche. Ces résultats sont conformes aux travaux de Koubaa et *coll.* [243], qui ont trouvé une valeur de 12 ± 0,2 (% MS) du grignon d'olive.

IV.3. Analyses des liquides

IV.3.1. Caractérisation physico-chimique de l'huile des grignons d'olives extraite

La caractérisation de l'huile extraite des grignons d'olive a une grande importance puisqu'elle permet d'apprécier sa qualité et va dicter les conditions de son utilisation.

Les critères de caractérisation de l'huile sont nombreux. Dans cette partie, nous étudions certaines caractéristiques de l'huile du grignon d'olive (HGO) en vue de les comparer avec l'huile d'olive vierge (HOV) alimentaire. Le Tableau IV.1 récapitule ces caractéristiques.

L'huile extraite des grignons d'olive possède un indice d'acide de 41,73mg KOH/g huile et une acidité libre de l'ordre de 20,97% d'acide oléique. Ces valeurs sont largement plus élevées que celles établies par la norme commerciale de la commission du Codex Alimentaire (CA) pour l'HOV. Mais elles ne sont pas loin de celles obtenues par Che et *coll.* [244], de l'ordre de 44,01mg KOH/g huile (≈22,11%). Un niveau d'acidité élevé de l'HGO peut être à l'origine de l'hydrolyse des triglycérides et la libération des acides gras libres. Le stockage inadapté ou prolongé des olives avant leur trituration est une des causes d'augmentation de ce paramètre [245].

L'indice de saponification de l'HGO est de l'ordre de 230,26 mg KOH/g huile, corrélé à une masse molaire moyenne de 892,69 $g.mol^{-1}$. La valeur de l'I_S trouvée est supérieure à l'intervalle fixé par la commission (CA) pour une HOV. Un indice de saponification élevé se traduit par un taux élevé d'acides gras à courte chaîne et une teneur en glycérol plus importante.

L'indice d'ester calculé (188,53 mg KOH/g_{huile}) confirme le résultat obtenu à partir de l'indice de saponification qui nous montre que l'HGO extraite est moins riche en acides gras à longues chaînes. Le pourcentage d'impuretés de 18,12% correspond à une forte prépondérance d'acides gras libres par rapport aux triglycérides. Cela veut dire que l'HGO est une huile impropre à la consommation, puisque l'on admet que ce pourcentage ne dépasse pas la valeur de 1 % dans les huiles alimentaires [246].

L'HGO extraite représente un indice de peroxyde (25,05 méq O_2/kg d'huile) élevé que la valeur limite fixée par le Conseil Oléicole International (COI). Ces résultats peuvent être liés

aux phénomènes d'oxydation qui dépendent des conditions de récolte, de stockage et ainsi de transformation des olives [247].

Tableau IV.1. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile du grignon d'olive.

Caractéristiques physico-chimiques	Huile du grignon d'olive (HGO)	Huile d'olive vierge (HOV)	
		Valeurs	Normes/références
Indice d'acide (I_A) (mg KOH/g $_{huile}$) Acidité (% acide oléique)	41,73 ± 0,20 20,97 ± 0,11	3,98 ≈ 4 ≤ 2	(C.A, 2015)
Indice de saponification (I_S) (mg KOH/g $_{huile}$)	230,26 ± 0,17	184 – 196	(C.A, 2015)
MM $_{moyenne}$ ($g.mol^{-1}$)	892,69 ± 0,25	-	-
Indice d'ester (I_E) (mg KOH/g $_{huile}$)	188,53 ± 0,08	-	-
% d'impureté	18,12 ± 0,08	< à 1%	(Charbonnier,1996) [246]
Indice de peroxyde (I_P) (méq O_2/kg $_{huile}$)	25,05 ± 0,26	≤ 20	(COI, 2011)
L'absorbance dans l'UV (K_{232} et K_{270})	K_{232} (2,75 ± ,08) K_{270} (0,39 ± 0,01)	$K_{232} \leq 2,60$ $K_{270} \leq 0,25$	(C.E.E, 1991)
Indice de réfraction (I_R)	1,465 ± 0,002	1,4677-1,4705	(C.A, 2015)
La densité à 20 °C ($g.cm^{-3}$)	0,917 ± 0,005	0,910 -0,916	(C.A, 2015)
viscosité cinématique à 40 °C ($mm^2.s^{-1}$)	34,758 ± 0,18	29,4	(Ballerini, 2006) [248]
Couleur à l'œil nu Aspect	Verdâtre intense Liquide à 25°C	- -	- -

L'HGO représente un coefficient K_{232} (2,75) qui dépasse la limite établie par le Conseil Européen (CE) pour une huile alimentaire (HOV). Ceci coïncide avec les résultats obtenus pour l'indice de peroxyde. Quant au coefficient K_{270}, sa valeur est de 0,39. Cette valeur est maintenue au-dessous de la limite fixée par la norme commerciale du CE pour l'HOV. La valeur élevée de cet indice est relative à une progression d'oxydation de l'huile conduisant à la formation des produits d'oxydation secondaires [249]. Cela confirme que l'HGO a atteint son stade final d'oxydation.

L'indice de réfraction de l'HGO analysée (1,465 à 20°C) n'est pas compris dans l'intervalle donné par la norme du CA pour l'HOV. Cela peut s'expliquer par une modification de la composition glycéridique de l'HGO extraite. En effet, la présence d'acides gras libre et la

diminution de doubles liaisons des acides gras constitutifs abaissent fortement l'indice de réfraction [250].

La densité de l'HGO a été mesurée à une température de 20°C. Sa valeur est strictement supérieure à la barre maximale de l'intervalle établi par la norme CA recommandé pour l'HVO, donc elle est dense, lourde et impure (la présence des AGL et des composés secondaires d'oxydation) [251].

La viscosité cinématique de l'huile extraite des grignons d'olive a été mesurée à 40°C. L'HGO possède une grande viscosité de l'ordre de 34,758 $mm^2.s^{-1}$, une valeur supérieure à celle de l'HOV alimentaire. D'après Demirbas [252], la présence des acides gras libres augmente considérablement la viscosité d'huile. La différence trouvée est donc due à l'acidité élevée de l'HGO.

La couleur de l'huile de grignon d'olive déterminée à l'œil nu est verdâtre plus intense et elle est liquide (ne se solidifie pas) à température ambiante.

IV.3.2. Comparaison entre les biodiesels produits et leurs caractérisations physico-chimiques.

Parmi les caractéristiques de l'huile extraite des grignons d'olive les plus intéressantes, résumées dans le Tableau IV.1, sont l'acidité et la viscosité. L'utilisation directe de l'huile du grignon d'olive (HGO) comme biocarburant dans un moteur diesel n'est pas possible en raison de son acidité et sa viscosité trop élevée, évaluée à 41,73 mg KOH/g_{huile} et à 29,76 $mm^2.s^{-1}$, respectivement. L'HGO donc nécessite un traitement avant de l'utiliser dans le moteur.

Afin d'outrepasser ces inconvénients, le procédé chimique a été choisi. Il est l'un des plus importants procédés de valorisation utilisés pour la transformation des huiles végétales en produits énergétiques utiles (esters alkyliques ou biodiesel).

En se basant sur la limite de 0,5 mg KOH/g_{huile} et 6,0 mm^2/s (40°C) concernant l'acidité et la viscosité des biocarburants, l'étape de pré-estérification des acides gras libres de l'HGO par un acide fort avant de passer à la trans-estérification basique est conseillée afin de réduire à la fois l'acidité et la viscosité du produit final.

IV.3.2.1. Comparaison entre les biodiesels issus de l'estérification/trans-estérification directe et indirecte

Dans le présent travail, la première étape du traitement chimique est la pré-estérification acide (H_2SO_4/MeOH). Elle a été réalisé sur :

1. l'huile extraite des grignons d'olive (méthode indirecte ou conventionnelle) ;
2. la biomasse séchée des grignons d'olive (méthode directe ou in-situ).

Dans la deuxième étape, les huiles traitées ont subi une trans-estérification en utilisant un catalyseur basique (KOH/MeOH).

Le but ici est de comparer le procédé conventionnel d'extraction-conversion de l'HGO en deux étapes avec le procédé in-situ d'extraction-conversion simultanée de l'HGO en une seule étape, en mesurant l'indice d'acide, le taux de conversion et le rendement final en esters méthyliques d'acides gras et d'évaluer le potentiel de chaque procédé de production du biodiesel répondant à la norme de qualité internationale. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau IV.2. L'estérification acide a permis donc d'éliminer les acides gras libres contenus dans les matières grasses utilisées (GO et HGO). Les indices d'acide des huiles pré-estérifiées issus de la biomasse du grignon d'olive et son huile ont été estimés à 1,79 et 1,85 mg KOH/g_{ester} respectivement. Ces valeurs sont inférieures à l'indice d'acide de l'HGO brute, dont la valeur est de 41,73 mg KOH/g_{huile}.

Ces résultats s'accordent bien avec ceux publiés dans la littérature. L'indice d'acide du mélange d'huiles usagées [253] et de l'HGO [244] a été effectivement diminué de 13,02 à 0,449 et de 44,01 à 2,75 mg KOH/g respectivement après l'estérification par l'acide sulfurique.

L'abaissement remarquable de l'acidité libre est dû à la conversion importante des acides gras libres de ces matières grasse en esters méthyliques, atteignant 95,71 et 95,56% pour la biomasse du grignon d'olive et son huile extraite, respectivement (Tableau IV.2).

Dans de nombreuses études, l'effet significatif de l'étape de pré-estérification acide est approuvé. Il a été conclu que l'application du procédé d'estérification par un acide fort mène à la réduction de l'acidité libre de plusieurs types d'huiles végétales à très hautes acidités [3,5,39] en convertissant leurs acides gras libres en esters alkyliques.

Les indices d'acide de l'HGO estérifié issus de deux processus (indirect et direct) sont acceptables et satisfaisants car ils sont inférieurs à la valeur recommandée par la littérature (1% ou 2 mg KOH/g) pour une trans-estérification alcaline performante [255]. En effet, un taux d'acidité supérieur à 1% conduit à la formation du savon dans le milieu réactionnel en présence d'un catalyseur basique, ce qui empêche la séparation des esters du glycérol et réduit fortement le rendement en biodiesel [2,41].

Dans le cas de la catalyse basique, après la réaction de trans-estérification, les indices d'acides des biodiesels produits sont de l'ordre de 0,26 mg $KOH/g_{biodiesel}$ ($EMAG_{GO}$) et 0,32 mg $KOH/g_{biodiesel}$ ($EMAG_{HGO}$). Ces valeurs sont inférieures à la valeur maximale tolérée (0,5 mg KOH/g) par la norme de biodiesel Américaine ASTM D6751 et Européenne EN14214.

Tableau IV.2. Caractérisation des esters issus de deux processus (conventionnel et in-situ)

Etape du traitement		Méthode utilisée	
		directe ou in-situ (GO séchée)	indirecte (HGO)
Après estérification acide	I_A (mg KOH/g ester)	1,79	1,85
	Taux de conversion des AGL en EMAG (%)	95,71	95,56
Après trans-estérification basique	I_A (mg KOH/g biodiesel)	0,26	0,32
	Rendement en EMAG (%)	98,46	97,2

Le Tableau IV.2 montre une amélioration du rendement final en biodiesels synthétisés. Le rendement en EMAG obtenu par le procédé in-situ est supérieur à celui issu du procédé conventionnel (98,46 % contre 97,2 %).

Dans ce contexte, l'estérification avec un alcool acidifié suivie par une trans-estérification alcaline dans le procédé in-situ a été appliqué avec succès aux diverses biomasses oléagineuse à haute teneur en acides gras libres. Il est constaté que le procédé d'extraction-conversion simultanée en une seule étape de l'huile d'algue [257], de son de riz [258], de graines de tournesol [259] et de soja [260] produit des esters alkyliques avec des rendements nettement supérieurs à ceux obtenus par le procédé conventionnel à partir de leurs huiles pré-extraites.

Le procédé in-situ facilite et simplifie la conversion de l'huile de la biomasse en EMAG directement à partir de la biomasse oléagineuse en éliminant le procédé d'extraction et de purification d'huile comme avec la méthode classique [228]. Cela veut dire que l'extraction et la conversion se déroulent dans une seule étape; les lipides de la biomasse sont simultanément extraits et convertis en EMAG [261].

Il est conclu que la présence de co-solvant dans le milieu réactionnel (alcool/catalyseur) est nécessaire pour extraire l'huile de la biomasse et faciliter sa conversion en esters alkyliques [262]. Un rendement maximal de biodiesel à partir d'algues a été obtenu par extraction et trans-estérification simultanées à l'aide d'hexane comme co-solvant [227]. Cela est expliqué par le fait que l'hexane dissout l'huile et rend ainsi le mélange réactionnel plus homogène. Par conséquent, la réaction de transformation peut se dérouler plus rapidement.

Ce processus de production de biodiesel permet une réduction significative de la durée totale de la procédure, une économie de temps et d'énergie, l'utilisation de quantités minimales d'échantillons, de réactifs, de solvants et, par conséquent, le coût final de la production de biodiesel est réduit [48,49].

IV.3.2.2. Caractérisations physico-chimiques des biodiesels synthétisés

Les biodiesels produits par les deux processus ont été caractérisés. Il existe des normes internationales européenne (EN 14214) et américaine (ASTM D 6751) qui peuvent contrôler les propriétés physiques et chimiques des biodiesels et évaluer leurs qualités.

Le Tableau IV.3 rassemble les propriétés physico-chimiques des biodiesels synthétisés par le processus conventionnel ($EMAG_{HGO}$) et in-situ ($EMAG_{GO}$) en comparaison aux normes internationales publiées par Knothe [56].

L'évaluation des différentes propriétés physico-chimiques des biodiesels élaborés révèle des résultats très prometteurs (Tableau IV.3).

La détermination des teneurs en esters synthétisés à base d'HGO et de la biomasse des GO sont respectivement 97,2 et 98,46%. Ces valeurs sont supérieures au rendement minimal préconisé par la norme européenne EN14214 qui est de 96,5%. Cela confirme que le choix du procédé chimique par estérification/trans-estérification de ces matières grasses est efficace pour convertir tous leurs composants lipidiques en esters.

La conversion chimique en deux étapes a donné des esters méthyliques, $EMAG_{HGO}$ et $EMAG_{GO}$, avec des indices acides avoisinant 0,32 et 0,26 mg KOH/g respectivement. Ces valeurs sont inférieures aux limites maximales de 0,5 mg KOH/g recommandées par les deux normes, Européenne (EN 14214) et Américaine (ASTM D6751). Un biodiesel avec une acidité faible empêche la corrosion des pièces du moteur [59].

Les viscosités cinématiques des esters $EMAG_{HGO}$ et $EMAG_{GO}$ ont été mesurées à 40°C et sont respectivement égales à 6,19 et 6,17 mm^2/s. Ces valeurs ne répondent pas à la norme EN14214 mais elles sont légèrement supérieures aux limites maximales préconisées par la norme ASTM D6751 (6,0 mm^2/s). En effet, la viscosité de l'HGO diminue de l'ordre d'un facteur 6. Cette baisse est un atout primordial puisqu'elle permet une meilleure atomisation par les injecteurs et donc une meilleure combustion [265].

La mesure de la densité à 15°C des biodiesels issus de l'HGO et des GO sont respectivement 884 et 881 kg/m^3. Ces valeurs sont incluses dans l'intervalle de densité toléré [860–900 kg/m^3] par la norme européenne EN14214. Cette différence de densité entre le biodiesel et le pétro-

diesel entraine une augmentation de la quantité de biodiesel injecté par le système d'injection [227].

Tableau IV.3. Caractéristiques physico-chimiques des biodiesels synthétisés

Propriétés	Unités	$EMAG_{HGO}$	$EMAG_{GO}$	Norme EN14214	Norme ASTM D6751
Teneur en ester	%	97,2	98,46	96,5 min	Non rapporté
Indice d'acide	mg KOH/g	0,32	0,26	0,5 max	0,5 max
Viscosité cinématique, 40°C	mm^2/s	6,19	6,17	3,5-5,0	1,9-6,0
Densité, 15°C	Kg/m^3	884	881	860-900	Non rapporté
Point d'éclair	°C	126	128	120 min	130 min
Point de trouble	°C	-2	-3	Non rapporté	Non rapporté
Point de congélation	°C	-6	-8	Non rapporté	Non rapporté
Point d'écoulement	°C	-3	-5	Non rapporté	Non rapporté
Indice de cétane ICC IC_{ID}	-	 45,22 49,8	 46,55 50,4	51 min	47 min
Couleur	-	1≈ jaune clair	1≈ jaune clair	Non rapporté	Non rapporté

La température du point d'éclair mesurée est de 126°C et 128°C pour le biodiesel issu de l'HGO et de la biomasse des GO respectivement. Ces valeurs sont conformes à la norme Européenne et elles sont légèrement inférieures aux températures minimales recommandées par la norme Américaine (130°C minimum). Ces températures élevées du point d'éclair permettent la manipulation et le stockage des biodiesels en toute sécurité [266].

Les biodiesels produits possèdent un point de trouble, de congélation et d'écoulement respectifs: -2°C, -6°C, -3°C pour $EMAG_{HGO}$ et -3°C, -8°C, -5°C pour $EMAG_{GO}$. En termes de ces propriétés d'écoulement, le biodiesel de la biomasse des GO présente un bon comportement à basse température par rapport à celui de l'HGO (démarrage à froid aisé).

Les valeurs de l'indice de cétane sont déterminées selon les deux méthodes empiriques décrites dans le chapitre III, en utilisant l'Eq.III.16 (ICC) et l'Eq.III.17. L'indice de cétane

calculé (ICC) pour les biodiesels de l'HGO et du GO est estimé à 45,22 et 46,55, respectivement. Ces valeurs ne répondent pas aux deux normes, Européenne et Américaine.

Tandis que la détermination de l'IC par la notion du point d'aniline (IC_{ID}) donne les valeurs suivantes : 49,8 et 50,4 pour les biodiesels de l'HGO et des GO respectivement. Les résultats obtenus ne sont pas conformes à la norme Européenne (51 minimale) mais ils sont en accord avec la norme Américaine (ASTM D6751) qui exige une valeur minimale de 47. Une valeur d'indice de cétane élevé facilite la combustion et diminue les émissions polluantes dans un moteur et vice versa [267].

Les deux biodiesels produits sont de couleur jaune claire correspondant à 1 dans l'échelle de couleurs, qui est généralement la couleur caractéristique de biodiesels issus des matières végétales [237].

IV.3.3. Caractérisation colorimétrique des extraits phénoliques de l'aubergine

IV.3.3.1. Influence des paramètres opératoires sur l'extraction conventionnelle des composés phénoliques obtenus sans broyage

Afin de révéler quels sont les facteurs qui ont le plus d'influence sur l'extraction des composés phénoliques de (pulpes/pellicules) d'aubergines, différentes conditions d'extraction par diffusion solide-liquide de biomasses découpées en morceaux ont été étudiées.

Les paramètres choisis sont: le pH (2, 7 et 12), teneur en éthanol dans l'eau (0, 50, 75 et 100 % (v/v) et la température (25, 50, 75 et 100°C). Le but était d'observer l'impact de tous ces paramètres sur la quantité des composés phénoliques totaux présents dans les extraits.

a/ Effet du pH

Trois milieux extractifs (acide, neutre et basique) ont été testés afin d'évaluer leur influence sur l'extraction des composés phénoliques de (pellicules/pulpes) d'aubergine. Les résultats sont présentés dans la Figure IV.2. On note que la concentration en composés phénoliques est affectée par la modification du pH de l'eau (ne prend pas en compte l'effet du broyage). Par l'augmentation du pH de l'eau, l'extraction des composés phénoliques de pellicules et de pulpes d'aubergine diminue. En effet, l'eau acidifiée est plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques que l'eau et l'eau alcaline (pH 2 > pH 7≈ pH 12). Par exemple, la concentration des composés phénoliques dans les morceaux de pellicules sont (7,75 mgEAG/g_{MS} pour pH2 vs 1mgEAG/g_{MS} pour pH7 vs 1,25 mgEAG/g_{MS} pour pH12).

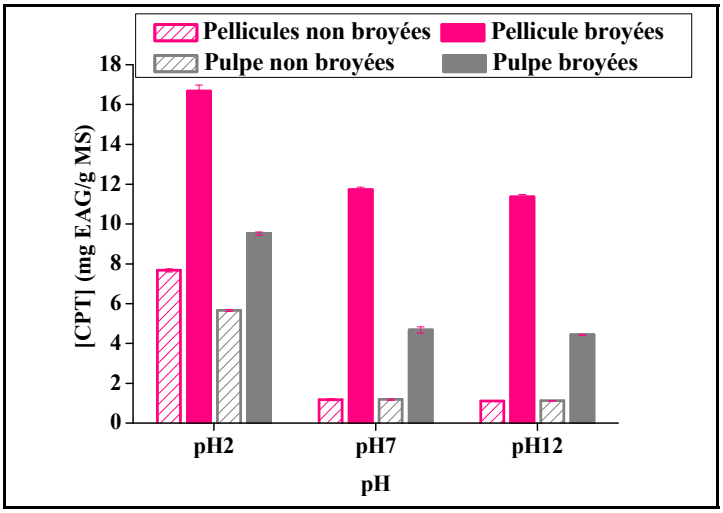


Figure IV.2. Impact du pH sur l'extraction des composés phénoliques totaux par diffusion des échantillons (pulpes et pellicules) non broyés et broyés (Solvant : Eau ;$R_{L/S}$= 10 (m / m) ; T_{Diff}=25°C ; t_{Diff}= 60 min; V_{agit}=150 tr/min ; pH [2-7-12])

D'autre part, les quantités des composés phénoliques extraites ne sont pas identiques dans les deux parties de l'aubergine. La concentration des extraits en composés phénoliques est plus importante au niveau des pellicules qu'au niveau des pulpes. Au milieu acide, la concentration des composés phénoliques dans les pellicules découpées a été 1,48 fois supérieure à celle dans les pulpes. Ceci est dû à la nature différente des composés phénoliques présents dans chaque partie.

Des études antérieures ont indiqué que les anthocyanines s'accumulent majoritairement dans les pellicules, ce qui donne la couleur pourpre des aubergines [268], tandis que les acides phénoliques sont les principaux composants des pulpes où les composés anthocyaniques sont complètements absents [269].

Ces résultats s'accordent bien avec ceux publiés dans la littérature. Il est trouvé que le pH du milieu d'extraction a un effet significatif sur l'extraction des composés anthocyanique [57,58] et l'ajout d'une quantité d'acide au solvant joue un rôle important dans l'extraction et la stabilité des anthocyanines de la pellicule d'aubergines [25,59].

b/ Effet de la teneur en éthanol dans le solvant

Compte tenu de l'utilisation potentielle des extraits naturels dans l'industrie alimentaire, l'éthanol (EtOH) et l'eau ont été choisis comme solvants d'extraction. L'éthanol est

économiquement plus accessible que les autres solvants avec une haute pureté. De plus, l'eau distillée et l'éthanol sont les solvants les plus employés puisqu'ils sont considérés comme solvants de qualité alimentaire (absence de toxicité), abondants, et peu coûteux [273].

Afin de déterminer quel est le solvant d'extraction le plus approprié pour extraire respectivement les composés phénoliques et les anthocyanines des aubergines, les solvants seuls (eau, éthanol) et mélanges binaires (éthanol/eau) ont été testés.

L'éthanol est un solvant volatil qui s'évapore plus rapidement dans un milieu lorsqu'il est chauffé d'où le choix d'effectuer les extractions à température ambiante de 25°C. La figure IV.3 présente les résultats de la concentration des composés phénoliques totaux des extraits obtenus à différentes proportions d'éthanol dans l'eau.

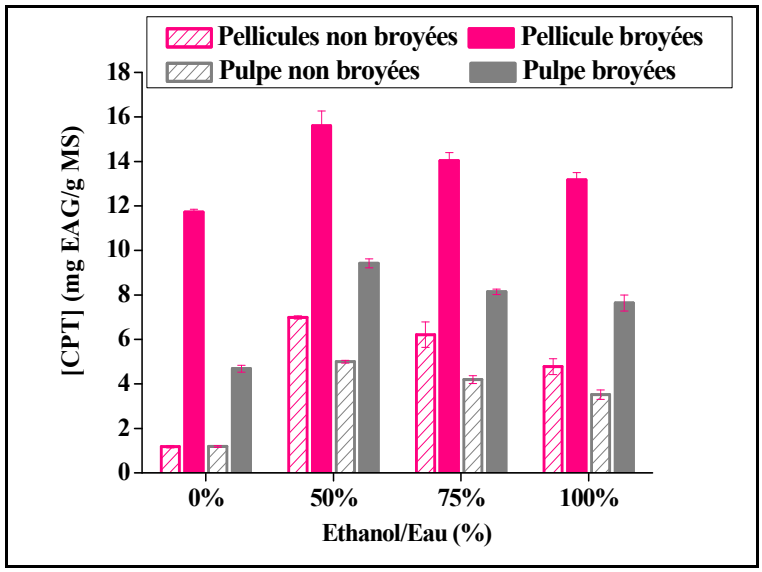


Figure IV.3. Impact de la teneur en éthanol sur l'extraction des composés phénoliques totaux par diffusion des échantillons (pulpes et pellicules) non broyés et broyés ($R_{L/S}$= 10 (m / m) ; T_{Diff}=25°C ; t_{Diff}= 60 min; V_{agit}=150 tr/min ; Solvant: EtOH/Eau [0-150-75-100] (% ; v/v))

Il a été observé que la présence d'éthanol dans l'eau peut augmenter les concentrations des extraits des pellicules/pulpes en composés phénoliques. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque 50% d'éthanol sont utilisés (7,75 mgEAG/g_{MS}), correspondant aux morceaux des pellicules. Cependant, pour des proportions d'éthanol supérieures à 50%, les quantités extraites diminuent. En plus, l'extraction est plus efficace avec le mélange éthanol-eau qu'avec uniquement de l'eau et de l'éthanol comme solvants. Lorsque l'éthanol est comparé à l'eau, ce dernier offre des concentrations en composés phénoliques faibles.

Pour les échantillons non-broyés par exemple, la composition de 50% d'éthanol/eau est 6,20 fois et 1,6 fois (pellicules) et 4,5 fois et 1,4 fois (pulpes) plus efficace que l'eau et l'éthanol pur, respectivement.

Il est déjà prouvé que l'extraction des composés phénoliques dépend de leur solubilité qui est notamment contrôlée par la polarité du solvant utilisé [199]. L'éthanol déstabilise les membranes cellulaires et, augmente leur perméabilité [62,63]. L'eau permet de produire le gonflement de la matrice solide. L'utilisation de mélanges (éthanol: eau) permet de combiner les effets positifs des deux solvants et favorise la pénétration du solvant dans les cellules de la matrice, améliore la dissolution des composés phénoliques et facilite donc leur extraction [199].

Un mélange à faible concentration en éthanol peut accéder aux cellules, mais à forte concentration peut provoquer la dénaturation des protéines, empêchant la dissolution des composés phénoliques [276].

Le mélange de solvants à un rapport adéquat permet de moduler la polarité du solvant et de modifier la solubilité de différents composés phénoliques dans le solvant d'extraction et par conséquent d'extraire des composés phénoliques de nature différente, conduisant à un fort enrichissement des extraits en composés phénoliques [65,66].

Il est donc important de trouver un mélange (éthanol/eau) de concentration appropriée afin de favoriser l'extraction des composés phénoliques**.** Dans notre étude, la meilleure solubilité des anthocyanes et des acides phénoliques de l'aubergine est obtenue lorsqu'un mélange binaire éthanol/eau (50:50; % v/v) est utilisé en tant que solvant d'extraction.

L'eau acidifiée est le solvant d'extraction le plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques des aubergines en comparaison avec un mélange 50% EtOH. De ce fait, l'eau acidifiée a été choisie comme solvant d'extraction pour le reste de l'étude.

c/ Effet de la température

L'influence de quatre températures sur l'extraction des composés phénoliques de pellicules/pulpes coupées en morceaux a été étudiée.

L'impact de l'augmentation de la température de 25 à 100 °C sur l'extraction de composés phénoliques est présenté dans la Figure IV.4. La concentration en composés phénoliques totaux est affectée par la température d'extraction. Des teneurs maximales de 19,52 mgEAG/g_{MS} vs 6,8 mgEAG/g_{MS} pour les morceaux de pellicule et de pulpe ont été obtenues à 75°C. Cependant, une élévation de la température jusqu'à 100 °C diminue les concentrations des extraits en composés phénoliques.

Des résultats similaires ont été mis en évidence par Thirunavukkarasu et Nithya [279] qui ont trouvé qu'une température de 76,5°C est optimal pour extraire des anthocyanines de la pellicule d'aubergine.

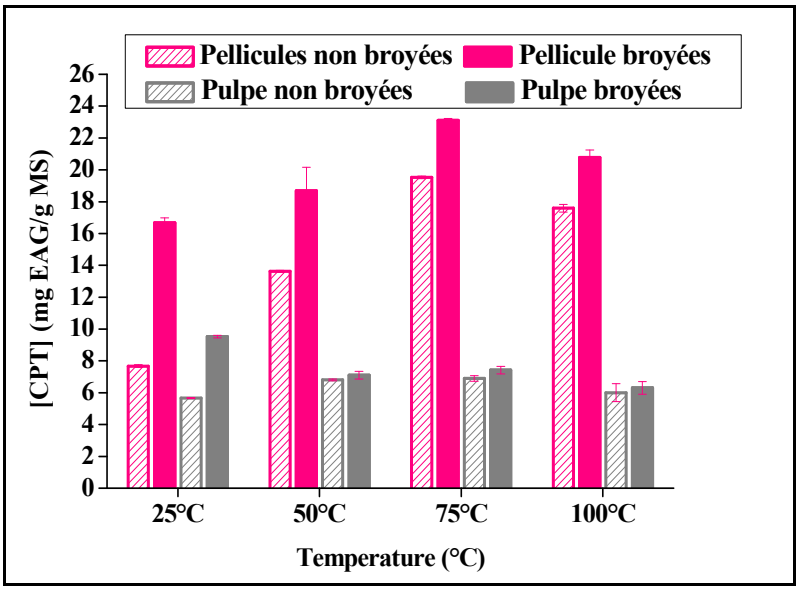


Figure IV.4. Impact de la teneur en éthanol sur l'extraction des composés phénoliques totaux par diffusion des échantillons (pulpes et pellicules) non broyés et broyés (Solvant: Eau acidifiée ; $R_{L/S}$= 10 (m / m) ; t_{Diff}= 60 min; V_{agit}=150tr/min ; T_{Diff} [25-50-75-100] (°C)).

L'effet de l'augmentation de la température a déjà fait sa preuve dans l'amélioration de l'extraction des composés phénoliques à partir de différentes sources naturelles [68,69]. Cependant, la température excessive affecte la stabilité de ces composés et il existe une température optimale au-delà de laquelle ils peuvent être dégradés. Par exemple, une température de l'ordre de 50-60 °C est définie par certains d'être la limite de dégradation des composés phénoliques [65,66], alors que pour d'autres, elle s'élève à 76,5°C [279].

IV.3.3.2. Influence des paramètres opératoires sur l'extraction conventionnelle des composés phénoliques obtenus avec broyage fin

Afin d'augmenter les rendements d'extraction obtenus à partir de morceaux de pulpes/pellicules d'aubergine, une étape de prétraitement par broyage a été proposée.

Dans cette étude, les deux parties d'aubergine ont été complètement broyées séparément en présence du solvant suivi d'une diffusion dans les mêmes conditions opératoires précédemment étudiées pour les pulpes/pellicules coupées en morceaux. L'influence du broyage fin sur l'extraction des composés phénoliques de chaque partie est présentée dans les Figures IV.2,

IV.3 et IV.4 pour les conditions opératoires évaluées (pH du solvant, teneur en éthanol dans l'eau et température), grâce à des expériences comparatives avec et sans broyage. A partir de ces résultats, les effets des conditions opératoires ont été évidents et très identiques à ceux obtenus pour l'extraction à partir des échantillons non broyés (découpés en morceaux).

Pour toutes les conditions étudiées et lorsque les échantillons sont finement broyés, les quantités de composés phénoliques extraits ont augmenté montrant ainsi l'effet significatif de la réduction de la taille des particules dans le procédé d'extraction des composés phénoliques de l'aubergine.

L'effet du broyage fin dans l'eau acidifiée sur les concentrations des extraits des pellicules et pulpes en composés phénoliques totaux pour la température d'extraction optimale (75°C) est présenté dans la Figure IV.5. On note une amélioration de la concentration des composés phénoliques suite au broyage de la (pulpe et pellicule) d'aubergine sous la forme de très fines particules. Cependant, cette amélioration observée est moins importante. Par exemple, la diffusion de pellicules broyés à 75°C a permis une amélioration de la quantité de composés phénoliques extraits de près de 1,2 fois comparé à l'extraction à partir de pellicules non-broyés.

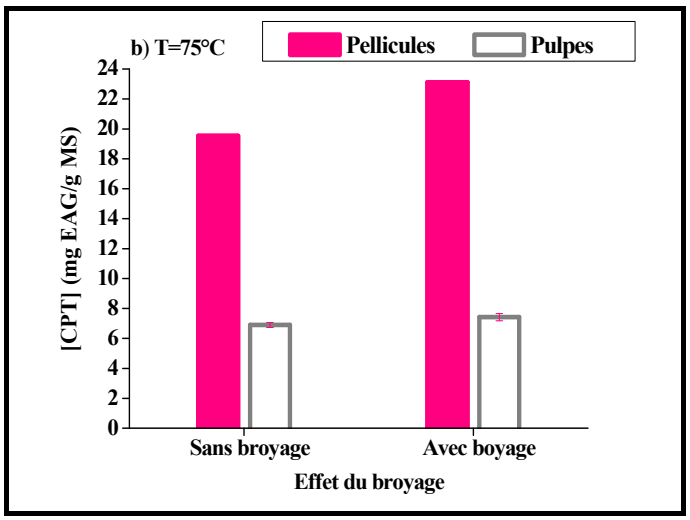


Figure IV.5. Impact de broyage sur l'extraction des composés phénoliques totaux par diffusion des échantillons (pulpes et pellicules)

(Solvant: Eau acidifiée ; $R_{L/S}$= 10 (m / m) ; t_{Diff}= 60 min; V_{agit}=150 tr/min ; T_{Diff}= 75°C)

Des résultats antérieurs indiquent que des teneurs importantes en composés phénoliques peuvent être obtenues de différentes matières lorsque la taille des particules est réduite [282]. Le broyage permet d'améliorer le phénomène du transfert de matière, en diminuant la distance de diffusion des solvants et des composés phénoliques et en augmentant la surface d'échange,

ce qui permet d'augmenter l'accessibilité des solvants aux composés d'intérêt pour les solubiliser [71,72]. La teneur des composés extraits par la suite est maximale.

IV.3.3.3. Influence du temps d'ultrason sur l'extraction des composés phénoliques

Les ultrasons (US) ont été appliqués comme un prétraitement innovateur, alternatif au broyage, qui peut augmenter et/ou atteindre les rendements d'extraction obtenues par le prétraitement conventionnel (broyage).

Le prétraitement par ultrasons (400 W, 12 kHz) a été appliqué aux particules de (pulpes et pellicules) non broyées (découpées morceaux) sans aucun contrôle de la température.

Cette étude s'attache à optimiser le temps d'extraction des composés phénoliques à partir de deux parties d'aubergine par ultrasons.

Des suspensions aqueuses (eau acidifiée) de pulpes et pellicules ont été traitées par US pendant 10, 20 et 30 min puis ont subi une diffusion (à température ambiante sous agitation magnétique) de 50, 40 et 30 min.

L'influence du temps des US sur l'extraction des composés phénoliques totaux est présentée dans la Figure IV.6 pour les pellicules (a) et les pulpes (b).

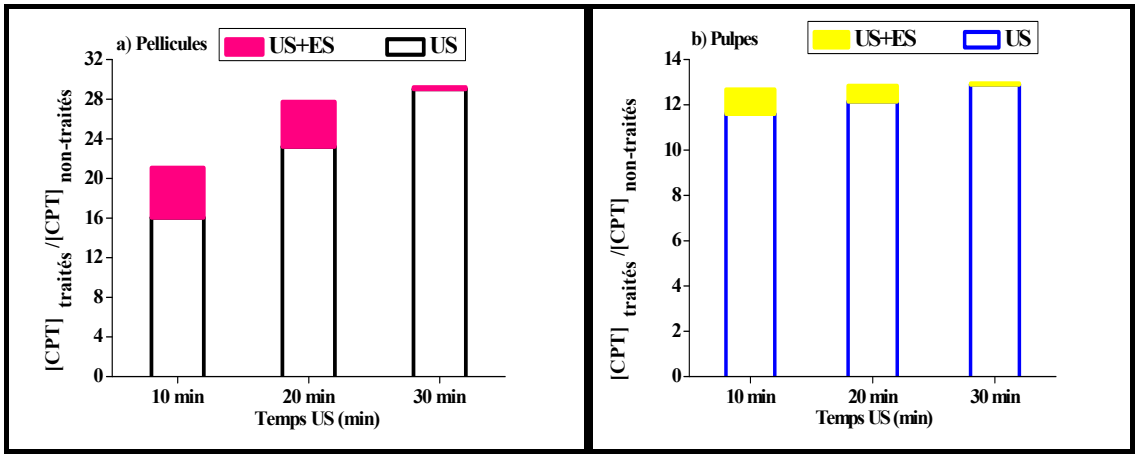


Figure IV.6. Impact du temps des US sur l'extraction des composés phénoliques totaux des échantillons carrées (a) pellicules et (b) pulpes

(La sonde à US [12 kHz-400 W] ; Solvant: Eau acidifiée; $R_{L/S}$= 10 (m / m); t_{us}= [10-20-30] min; t_{ES}= [30-40-50] min ; V_{agit}=150 tr/min; T_{diff}=25°C).

La Figure IV.6 montre une augmentation progressive dans la concentration des extraits en composés phénoliques quand le temps du traitement par US augmente (US_{10}<US_{20}<US_{30}). Cette tendance est valable pour chaque partie étudiée.

Les résultats obtenus ont montré également que les pulpes nécessitent un temps de traitement plus court comparé aux pellicules (10 contre 30 min) pour la libération totale de leurs contenus phénoliques. L'extraction des composés phénoliques de la pellicule est beaucoup plus complète au bout de 30 min, ce qui permet d'atteindre des extraits concentrés en composés anthocyaniques que ceux obtenus pour 10 et 20 min.

Ces résultats montrent clairement l'effet important du temps des US appliqué lors du prétraitement sur l'extraction des composés phénoliques totaux des aubergines, particulièrement les anthocyanines des pellicules.

A noter également quand les extraits issus de traitement aux US sont amenées pour des diffusions supplémentaires (ES) pour un temps total d'une heure (US+ES), les concentrations finales en composés phénoliques ont été améliorés. Cela prouve le potentiel des US dans l'intensification de l'extraction des composés phénoliques d'une part, et l'efficacité de combiner l'extraction par US à une étape de diffusion qui peut faciliter la libération du contenu cellulaire et maximiser par la suite les rendements finaux d'extraction d'autre part.

L'effet significatif des ultrasons (US) sur l'extraction des composés phénoliques a également été constaté par d'autres chercheurs [73,74]. Ils ont montré que le phénomène de cavitation induit par les US est responsable de l'amélioration d'extraction des anthocyanines par l'endommagement de la membrane cellulaire des pellicules d'aubergine et la libération facilité de leur contenu.

IV.3.4. Caractérisation chromatographique des extraits phénoliques de la pellicule d'aubergine

La composition chimique de la pellicule d'aubergine a été déterminée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) dont les conditions opératoires ont été détaillées précédemment. Les chromatogrammes de l'analyse des extraits de la pellicule obtenus par traitement aux ultrasons à différents temps (10, 20, 30 min) et par une diffusion simple pendant 1heure (témoin) sont présentés dans la Figure IV.7.

Tous les composés ont été identifiés par comparaison de leur temps de rétention, avec ceux publiés dans la littérature [75-77].

Les profils HPLC (Figure IV.7) montre que les pellicules non-traitées (T_{60}) et traitées (US_{10}, US_{20}, US_{30}) présentent le même groupe de composés phénoliques qui appartiennent à la famille des flavonoïdes et plus spécifiquement les anthocyanes. Le composé majoritairement identifié dans les quatre extraits de pellicule est la delphinidine-3-rutinoside.

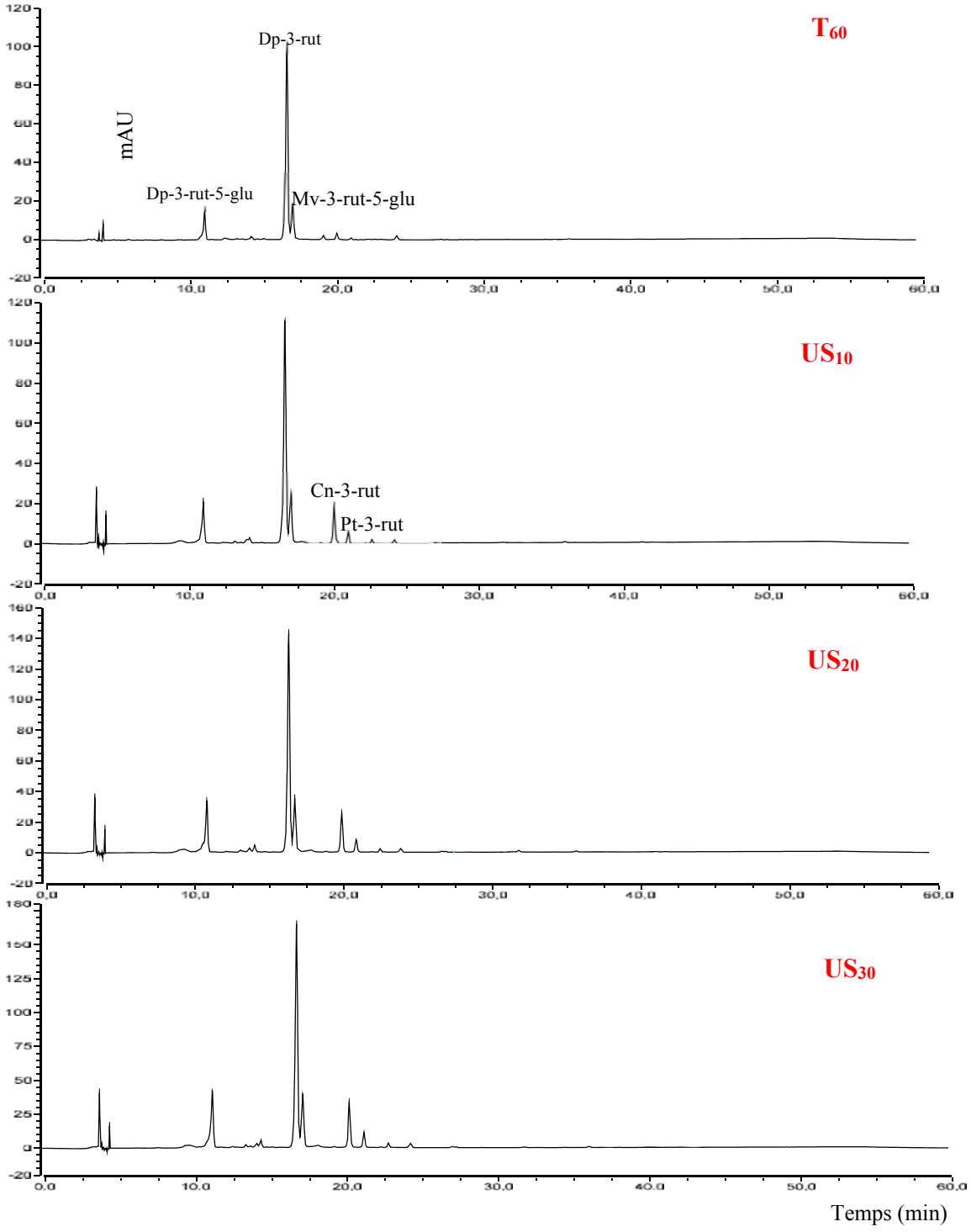


Figure IV.7. Chromatogrammes HPLC-DAD à 543 nm des extraits aqueux$_{pH2}$ de la pellicule carrée-Diff$_{60}$et de la pellicule carrée-US$_{10, 20,30}$

(Conditions opératoires: pellicule d'aubergine carrée, solvant : Eau acidifiée, $R_{L/S}$= 10 (m/m), t $_{US}$= 10, 20, 30 (min), t $_{Diff}$=60 min, V_{agit}=150 tours/min.

Identification des pics :Cn, cyanidine; Dp, delphinidine; Mv, malvidine; Pt, petunidine; glu, glucoside; rut, rutinoside.)

En comparaison avec la littérature, nos résultats sont en bon accord avec les recherches qui ont montré que les pellicules d'aubergine de différentes variétés existant dans le monde sont composés majoritairement d'anthocyanines [25,77,78] avec une domination de la delphinidine-3-rutinoside.

Par contre, la delphinidine-3-coumaroylrutinoside-5-glucoside (nasunine) est le composé anthocyanique principal de la pellicule d'aubergine japonaise [291]. Ce dérivé de la delphinidine n'a pas été détecté dans notre étude.

Par ailleurs, quatre composés anthocyaniques ont été identifiés: **(1)** la delphinidine-3-rutinoside-5-glucoside**, (2)** la malvidine-3-rutinoside-5-glucoside, **(3)** la cyanidine-3-rutinoside et **(4)** la petunidine-3-rutinoside**.** Cette étude montre pour la première fois la présence des composés (**3)** et **(4)** dans les extraits des pellicules d'aubergine. Ces deux nouveaux composés anthocyaniques ont été retrouvés dans les extraits d'ultrasons et ils sont complétement absents dans les extraits de diffusion (T_{60}).

Cela veut dire que les pellicules traitées par ultrason à différents temps produisent cinq composés et seulement trois composés dans les extraits de diffusion (pellicules non-traitées). Ces observations peuvent être expliquées par la dégradation de la composition phénolique des extraits issus de la diffusion.

Il est bien connu que les anthocyanines se décomposent par l'application d'un temps d'extraction long [199]. Les résultats obtenus sont cohérents avec ceux obtenus par Zhu et *coll.* [292]. Ils ont trouvé treize (13) composés d'anthocyanes dans la patate douce violette extraites par ultrasons et seulement six (06) composés par extraction conventionnelle, montrant que l'extraction par ultrasons est plus potentielle (efficace) et plus sélective qu'une diffusion simple.

Les résultats de la HPLC prouvent que les composés anthocyaniques ont été extraits à des concentrations plus élevées lorsque les ultrasons ont été appliqués. De plus, les extraits issus de 30 min du traitement par ultrasons sont les plus riches en composés identifiés, montrant ainsi l'impact du temps des ultrasons sur la quantité des anthocyanines extraite à partir de la pellicule.

Le potentiel des ultrasons pour l'extraction intensive d'anthocyanes quantitativement et qualitativement est également confirmé [293]. Ces auteurs ont expliqué que l'efficacité des ultrasons est liée aux changements dans la structure cellulaire provoqués par le phénomène de cavitation. Ce phénomène a pour conséquence non seulement d'intensifier l'extraction mais également de conduire à la libération sélective du contenu intracellulaire d'une matrice végétale.

IV.3.5. Caractérisation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des pellicules d'aubergine

La méthode colorimétrique de DPPH a été choisie afin d'évaluer l'activité anti-oxydante des extraits de pellicules d'aubergine obtenus après une heure de diffusion (témoin) et après un traitement par ultrasons à différents temps (10, 20 et 30 min) suivi d'une diffusion. Pour mieux comprendre la réactivité de DPPH avec les différents extraits testés, le paramètre de la CI_{50} a été introduit.

L'effet du temps des US sur l'activité anti-oxydante des différents extraits de pellicules est présenté par leurs concentrations inhibitrices CI_{50} (µg/ml) et leurs teneurs en composés phénoliques totaux (mgEAG/g_{MS}). Les résultats ont été comparés à des extraits de diffusion simple (témoin) et rassemblés dans la Figure IV.8. On rappelle qu'une valeur plus faible de la CI_{50} indique une activité anti-oxydante plus élevée. De cette figure, l'ensemble des extraits étudiés révèlent des propriétés anti-oxydantes intéressantes. Ceci est soutenu par les faibles valeurs de la CI_{50} exprimées en µg/ml. A contrario, en fonction du traitement appliqué sur les morceaux de la pellicule, l'activité anti-oxydante mesurée est significativement supérieure pour les extraits des US comparée aux extraits de diffusion. Ainsi, ces résultats suggèrent que les extraits issus des pellicules traités pendant 30 min par US inhibent mieux le radical de DPPH que les pellicules traités pendant 10 min et diffusés pendant 60 min.

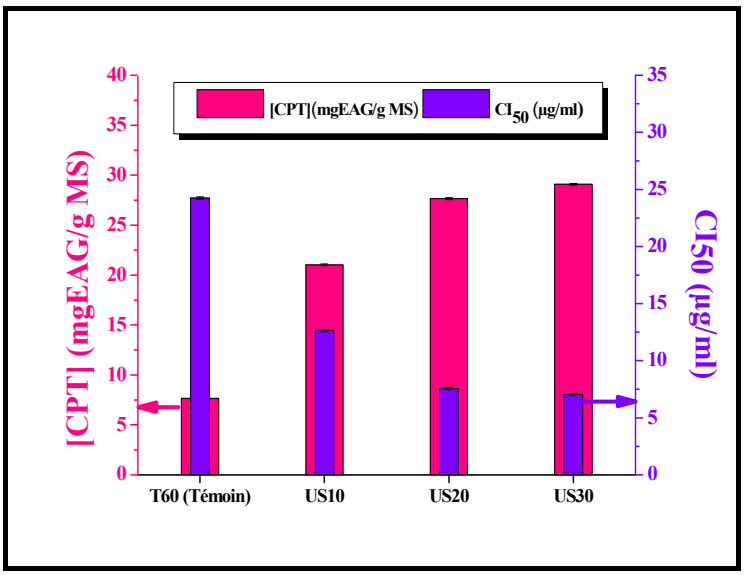


Figure IV.8. Effet du traitement par US à différents temps sur l'activité anti-oxydante des extraits de pellicules comparés à une simple diffusion (témoin).

La CI_{50} des extraits (US_{30}) est 1,80 fois et 3,44 fois plus élevé que celles des extraits (US_{10}) et (T_{60}) respectivement. Ces résultats permettent de classer l'activité anti-oxydante des extraits

selon leurs valeurs de la CI_{50} par ordre croissant : AO_{US30}>AO_{US20}>AO_{US10}>AO_{T60}. Cela montre à la fois l'efficacité du traitement sous-US par rapport à une diffusion sous-agitation (témoin) d'une part et l'importance du temps d'extraction assistée par US d'autre part.

De plus, les résultats de la Figure IV.8 montrent que l'activité anti-antioxydante est dépendante du contenu en composés phénoliques totaux des extraits. La fraction (US_{30}) est la plus riche en composés phénolique (29,096 mg EAG/g_{MS} pour US_{30} vs 7,651 mgEAG/g_{MS} pour T_{60}) et elle est la plus active (CI_{50} = 7,048 µg/ml pour US_{30} vs CI_{50} = 24,257 µg/ml pour T_{60}).

Cette hypothèse est bien démontrée par plusieurs chercheurs qui ont montré qu'il existe une corrélation très significative entre la teneur en composés phénoliques et l'activité anti-oxydante contre les radicaux DPPH, de l'extrait méthanolique de pellicules d'aubergine [294] et de feuilles d'olivier [295]. Cependant, l'intensité de l'activité anti-oxydante n'est pas liée uniquement à la teneur globale en composés phénoliques mais également à leur nature.

De nombreuses études ont mis en évidence l'existence de relations structure des flavonoïdes et la capacité anti-oxydante [84,85]. La présence d'une structure de type catéchol sur le cycle B est étroitement corrélée à une activité anti-oxydante importante du fait de la plus grande stabilité de la forme radicalaire (radical phénoxy) généré lors du piégeage par la fonction phénolique située en ortho [295].

Les résultats de la HPLC montrent que la composition chimique des d'extraits issus de la diffusion et du traitement aux ultrasons des morceaux de pellicules contiennent des composés anthocyaniques, particulièrement des dérivés de la delphinidine. Cette molécule a montré une capacité antioxydante élevée, principalement liée aux éléments structurels suivants : **(1)** le motif catéchol et **(2)** le 3^{éme} groupe hydroxy en position 5' dans le cycle B [298] (figure IV.9).

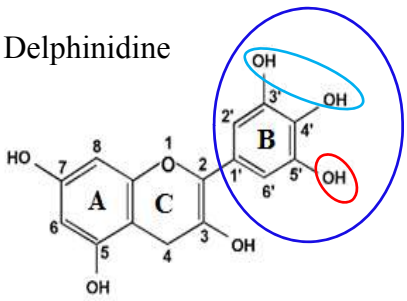


Figure IV.9. Relation entre la structure de delphinidine et sa capacité anti-oxydante

À cet égard, les delphinidines retrouvés dans les extraits de la pellicule d'aubergine (Dp-3-rut et Dp-3-rut-5-glu) possèdent les deux éléments structurels présentés dans la Figure IV.9. Tandis que la Cn-3-rut et la Pt-3-rut ont seulement un noyau catéchol en cycle B sur leur structure. C'est sans doute la combinaison de tous ces motifs sur la structure des anthocyanes

de la pellicule traitée aux ultrasons à différents temps confère aux extraits (US_{30}, US_{20}, US_{10}) une bonne activité anti-oxydante. La faible valeur de la concentration inhibitrice CI_{50} (↑AO) des extraits (US_{30}) est due à la forte présence d'un mélange de ces composés structurels spécifiques dans le piégeage du radical DPPH.

Les extraits de la pellicule d'aubergine diffusé (T_{60}) sont les moins actifs parce qu'ils ne contiennent pas des Cn-3-rut et des Pt-3-rut, dans lesquels l'absence des donneurs d'hydrogène et d'électrons à un radical libre (motif ortho-diphénol sur le cycle phényl), ce qui entraîne vraisemblablement une activité anti-oxydante plus faible. L'effet de l'hydroxylation dans le cycle B sur la capacité de piégeage des radicaux a également été constaté dans la littérature par d'autres auteurs [299].

IV.3.6. Caractérisation structurale des résidus de la pellicule d'aubergine

Pour une meilleure compréhension de l'extraction des anthocyanines d'aubergine par US, des résidus de pellicules ont été collectés après chaque traitement aux ultrasons (10, 20, 30 min), et ont été observés par microscopie électronique à balayage (MEB) et comparés à des résidus de pellicules non traitées (1 h de diffusion). Le protocole expérimental de la microscopie électronique à balayage est détaillé dans le chapitre III.

À notre connaissance, il n'existe aucune information sur la caractérisation structurale de la pellicule d'aubergine par MEB. La Figure IV.10 illustre les observations microscopiques réalisées sur les deux couches de la pellicule, interne (A) et externe (B).

De l'extérieur vers l'intérieur de la pellicule d'aubergine, on distingue:

- une couche épidermique (B), formée de cellules à parois épaisses. Cette couche extérieure est recouverte par une surface cireuse, comme celle de la pomme, donnant un aspect brillant. Elle rend la pellicule non mouillable et rigide.
- de l'autre côté se trouvent une couche sous-épidermique (A), qui se confonde avec la pulpe à l'intérieur, de cellules à parois très fines.

L'analyse des images microscopiques (Figure IV.10) démontre que les deux méthodes d'extraction utilisées produisent des changements dans la structure de la pellicule mais les dommages causés sont distincts selon la couche analysée.

L'étude comparative de l'état des cellules obtenues à partir d'échantillons traités par US et diffusés n'a pas révélé de grandes différences structurales au niveau des cellules de la couche interne de la pellicule (Figure IV.10-A). Ces deux méthodes ont induit des effets déstructurants plus marqués affectant l'intégrité des parois cellulaires. Celle-ci se manifeste par leurs fragilités

qui sont facilement déformables lors d'un traitement à US (image US_{10}, US_{20}, US_{30}) ou une diffusion simple (image T_{60}), à l'origine des endommagements totaux des parois cellulaires.

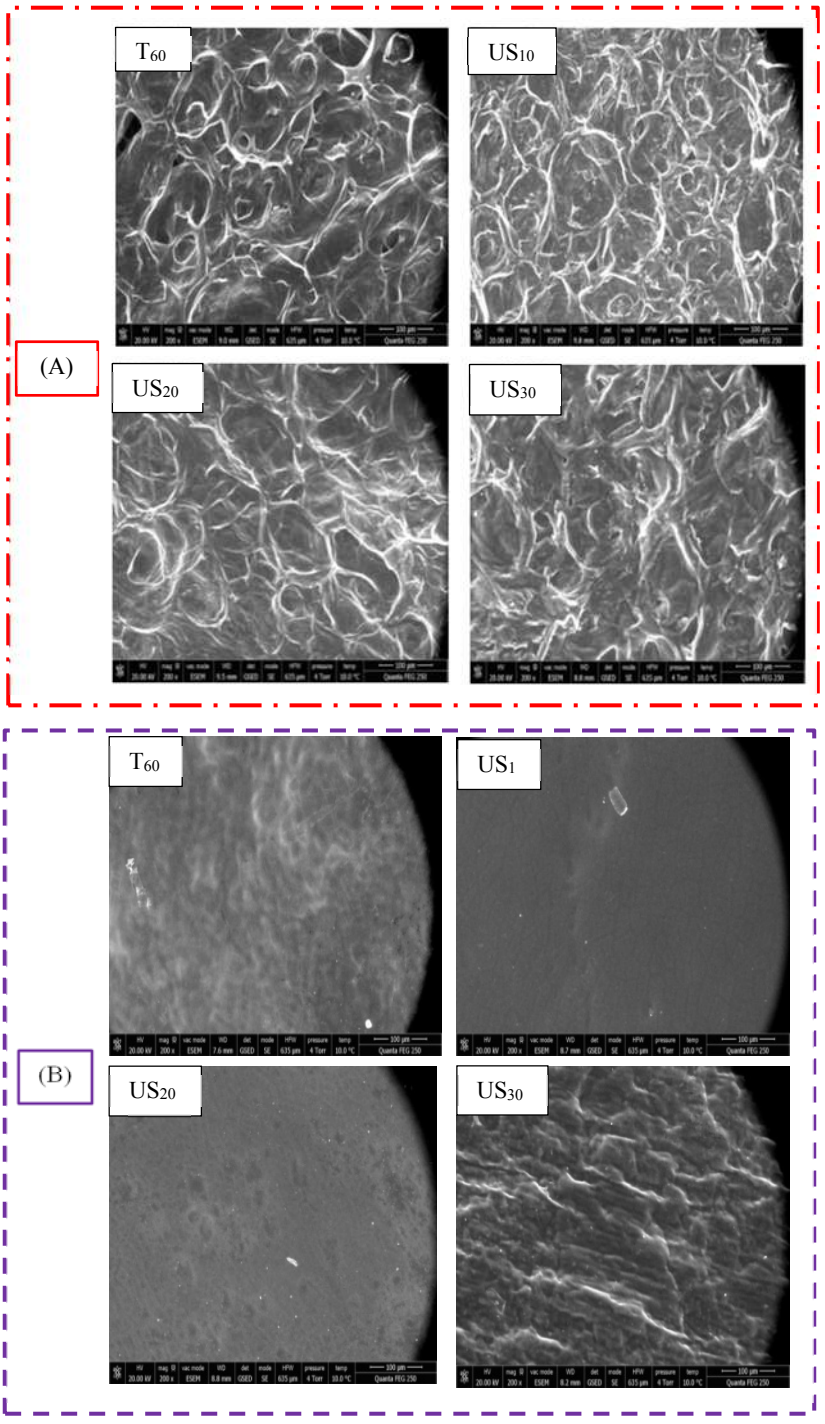


Figure IV.10. Effet du temps des ultrasons sur la structure des pellicules d'aubergine observée au Microscope Electronique à Balayage.
Couche interne (A) et externe (B) des pellicules résiduelles après une diffusion de 60 min (T_{60}) et après un traitement de 10 min (US_{10}), 20 min (US_{20}) et 30 min (US_{30}) aux ultrasons (US): sonde US, (12 kHz, 400W).

Cependant, les images de la Figure IV.10-B indiquent que les changements structuraux observés pour l'extraction assistée par US sont différents de ceux observés par diffusion. Le traitement aux ultrasons pendant 10 min (image US_{10}) n'induit aucun endommagement cellulaire de la couche épidermique, alors qu'elles sont endommagées avec une légère déstructuration (image T_{60}) en raison de la longue durée de diffusion (60 min).

L'épaisseur et la rigidité de la couche externe constituent une barrière et une forte résistance membranaire au traitement par US. Par conséquent, l'efficacité des US sur l'extraction des composés intracellulaires diminue, expliquant l'absence d'endommagement observé au début de traitements (10 min). Cet effet a été compensé par une augmentation du temps du traitement. Sur la Figure IV.10-B, on note que la déstructuration des cellules de la couche externe de la pellicule se produit progressivement avec l'augmentation du temps des US appliqué (image US_{10}, US_{20}, US_{30}). Un temps maximal de traitement (30 min) a permis d'atteindre des déstructurations cellulaires importantes. Ceci a entraîné la réduction de l'épaisseur des membranes et la perte de leur perméabilité. Une perméabilisation plus importante de l'épiderme durant 30 min induit une plus grande pénétration du solvant dans les cellules contenant les anthocyanines, en améliorant leur extraction vers le solvant.

Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par d'autres auteurs lors des observations de l'effet des ultrasons par MEB sur les pulpes/pellicules de figues de Barbarie rouges [300] et les feuilles d'olivier [301]. Ces auteurs ont montré que la cavitation affecte la structure des cellules du solide induisant l'endommagement de leurs membranes et/ou parois cellulaires, ce qui engendre une meilleure accessibilité du solvant au contenu cellulaire et donc, permet une meilleure libération des composés d'intérêts, comme les colorants [300] et les composés phénoliques [301] dans le milieu environnant.

Les observations microscopiques des résidus de pellicules confirment qu'il existe une corrélation entre le temps des US appliqué et le degré d'endommagement cellulaire provoqué par ce prétraitement, ainsi que ce dernier et l'extractibilité des composés phénoliques. Un temps de 30 min est capable d'endommager et fragiliser les membranes et/ou parois cellulaires de la couche épidermique de la pellicule qui contient les anthocyanines. Les extraits issus de pellicules traités pendant 30 min ont une concentration en composés phénoliques totaux la plus élevée (Figure IV.8) et une meilleure composition anthocyaniques (Figure IV.9) par rapport aux témoins (60 min de diffusion).

IV.3.7. Caractérisation spectrale par FT-IR des liquides huileux obtenus

IV.3.7.1. Caractérisation de l'huile des grignons d'olive extraite

La spectroscopie d'absorption infrarouge a été utilisée pour obtenir le spectre d'absorption déterminant la nature des différents groupements chimiques fonctionnels (C=O, C-O, etc…) et structuraux (CH_3, CH_2, etc…) présents au sein des composés constituant l'huile des grignons d'olive. Ce spectre infrarouge peut fournir également des informations sur les impuretés y associées dans le cas de dégradation de la qualité de cette huile extraite par Soxhlet.

La Figure IV.11 présente les spectres des deux huiles: l'huile extraite de la biomasse des grignons d'olive (HGO) et l'huile d'olive vierge (HOV) alimentaire commerciale (témoin) à des fins de comparaison.

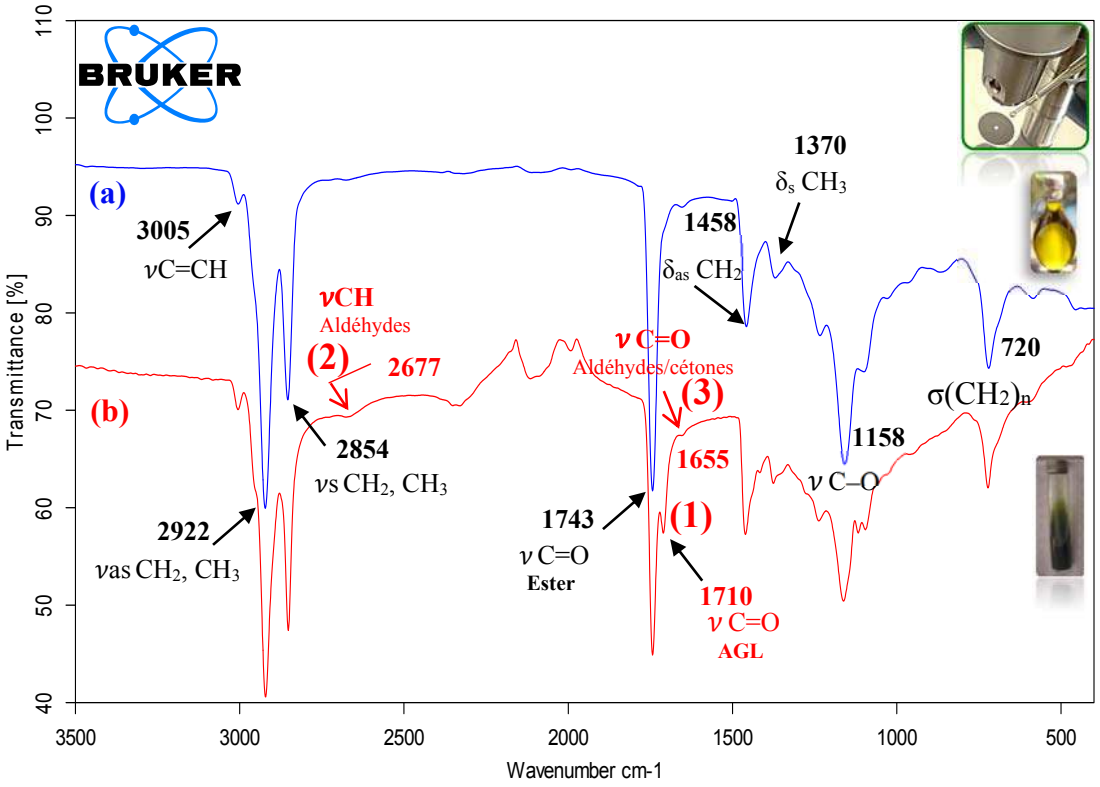


Figure IV.11. Comparaison des spectres infrarouge de l'HOV alimentaire (a) et l'HGO extraite (b).

Les spectres infrarouges de l'HOV (a) et l'HGO (b) sont similaires dans la région située entre 3500 et 2800 cm^{-1}. Les pics à 2922 et à 2854 cm^{-1} du spectre (b) sont moins intenses en les comparants au spectre (a). Cela est dû au raccourcissement des chaînes hydrocarbonées des acides gras constitutifs d'huile [302]. Toutefois, il existe des différences visuelles dans la région entre 2800 et 500 cm^{-1} permettant de les distinguer: Le spectre de l'HGO (b) a montré l'apparition de trois pics à : **(1)** 1710cm^{-1}, **(2)** 2677cm^{-1}, et **(3)** 1655 cm^{-1}. La bande

supplémentaire **(1)** est attribuable à l'élongation du groupe carbonyle (C=O) des acides gras libres formés suite à l'hydrolyse des triglycériques de l'HGO extraite [303]. Ce résultat confirme la valeur élevée de l'indice d'acide (I_A). Le petit pic **(2)** et la bande d'absorption de très faible intensité à côté du pic des AGL **(3)** correspondent aux composés secondaires d'oxydation de l'HGO à fonction carbonyle (aldéhydes et cétones) [304].

Les résultats obtenus grâce aux spectres FT-IR sont en accord avec les résultats obtenus par les méthodes classiques (analyses physico-chimiques). La dégradation de l'HGO a été confirmée par la formation des composés secondaires à fonction carbonyle (acides gras libres, aldéhydes et cétones). Les acides gras libres et d'autres produits de dégradation toxiques la rendent impropre à la consommation humaine (huile non alimentaire).

Les attributions des différentes fonctions du spectre (a) (HOV) observées en infrarouge sont regroupées dans le Tableau IV.4 et l'identification des bandes d'absorption est basée sur les résultats obtenus par Rohman et Man [305].

Tableau IV.4 : Localisation et attribution des différentes bandes d'absorption infrarouge de l'huile d'olive [305].

Bande (Cm^{-1})	Groupes fonctionnels	Type de vibration	Symbole
3005	C=C-H *cis* (CH sp2)	Elongation	υC=CH
2922	CH_2, CH_3 (CH sp3)	Elongation asymétrique	υas CH_2, CH_3
2854	CH_2, CH_3 (CH sp3)	Elongation symétrique	υs CH_2, CH_3
1743	C=O	Elongation symétrique	υs C=O
1458	CH_2 (CH sp3)	Déformation dans le plan	δas CH_2
1370	CH_3 (CH sp3)	Déformation dans le plan	δCH_3
1158	C-OH	Elongation	υC-O
720	CH_2 (CH sp3)	Rotation	σ$(CH_2)_n$

IV.3.7.2. Caractérisation des esters méthylique d'acide gras produits

L'analyse spectrale par FT-IR a également été utilisée pour suivre toutes les modifications des liaisons chimiques engendrées par l'exposition de la biomasse séchée du grignon d'olive et de son huile au traitement chimique.

Le spectre FT-IR de l'HGO a été comparé au spectre d'EMAG obtenu à partir de cette huile (Figure IV.12). Les mêmes pics d'absorption avec de petits déplacements ont été observés dans le spectre du biodiesel (b) comparativement au spectre de l'HGO (a). La disparition du pic à 1710 cm^{-1} du spectre (a) est due à la conversion des acides gras libres présent dans l'HGO en

esters méthyliques. Cela a été confirmé par le groupement carbonyle (C=O) de la fonction ester à 1743 cm^{-1} qui est nettement plus intense dans le biodiesel (ester méthylique) que dans l'HGO (ester du glycérol). Les principales différences entre les deux spectres résident également dans la région spectrale (fingerprint) entre 1500 et 900 cm-1.

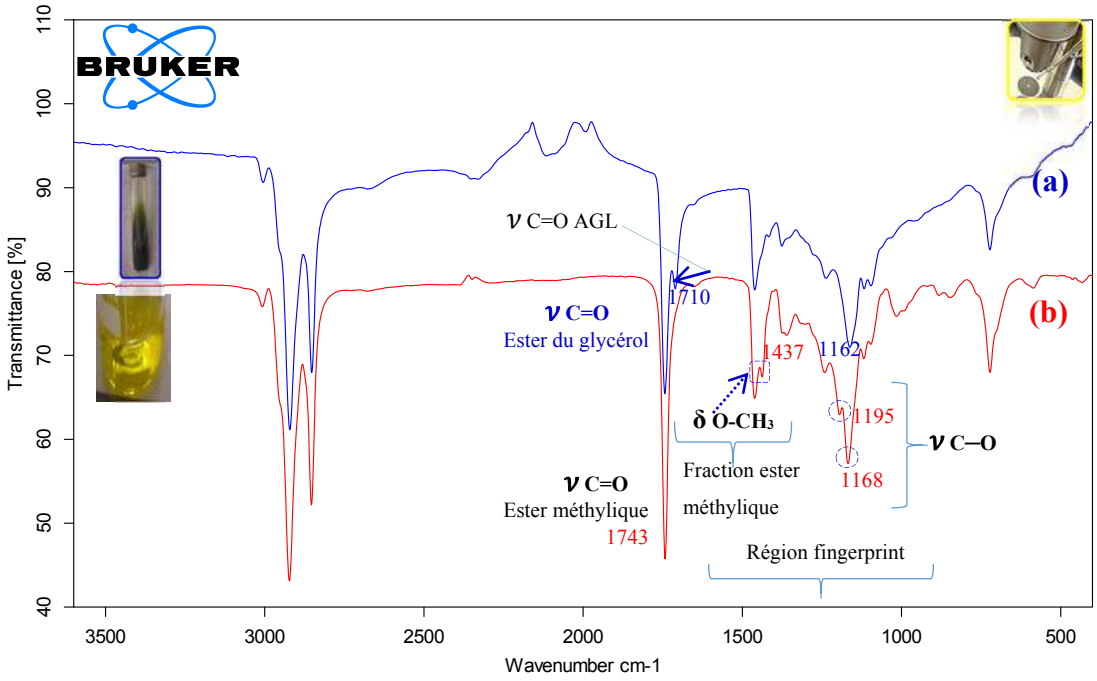


Figure IV.12. Comparaison des spectres infrarouge de l'HGO (a) et son Ester Méthylique d'Acide Gras $EMAG_{HGO}$ (b).

Le traitement chimique en deux étapes entraine des changements structuraux assez marqués sur l'HGO lors de sa conversion en ester. Ces modifications correspondent à la l'apparition d'un nouveau pic à 1437 cm^{-1} correspondant à la vibration de déformation du groupe $O\text{-}CH_3$ de la fraction d'esters méthyliques [306], et la division de la bande d'absorption à 1162 cm^{-1} du spectre d'HGO (a) en deux pics distincts à 1195 et 1168 cm^{-1} dans son ester (spectre b). Ces résultats sont en accord avec ceux publiés dans la littérature (Figure IV.13) par d'autres auteurs pour différentes huiles [47,95]. Il est constaté que la présence de nouveaux pics précédemment discutés indique la conversion de l'huile de roquette [308], d'algue [227], d'amande amère [262] et de poisson [307] en ester méthylique d'acides gras (biodiesel). Ceci confirme que l'HGO a également le potentiel de produire du biodiesel.

Une fois la conversion effectuée de l'huile des grignons d'olive en biodiesel, le procédé (estérification/transestérification) in-situ est choisi afin de minimiser les étapes du procédé d'obtention du biodiesel et réduire, par conséquent, le coût final de production. Cette technique

permet l'obtention d'un biodiesel directement de la biomasse des grignons d'olive sans passer par une étape d'extraction de son huile.

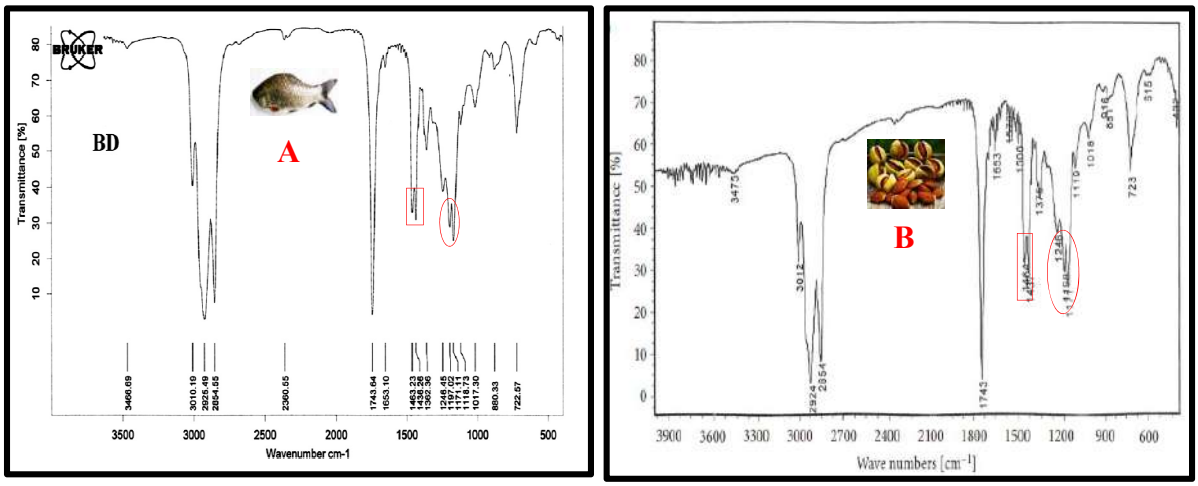


Figure IV.13. Spectre FT-IR de biodiesel de l'huile de poisson (A) [307] et l'huile d'amande amère (B) [262].

La Figure IV.14 illustre les spectres d'ester méthylique d'acide gras obtenus à partir de la biomasse du grignon d'olive séché (spectre a) et de son huile extraite (spectre b). Les deux spectres affichent une grande similarité.

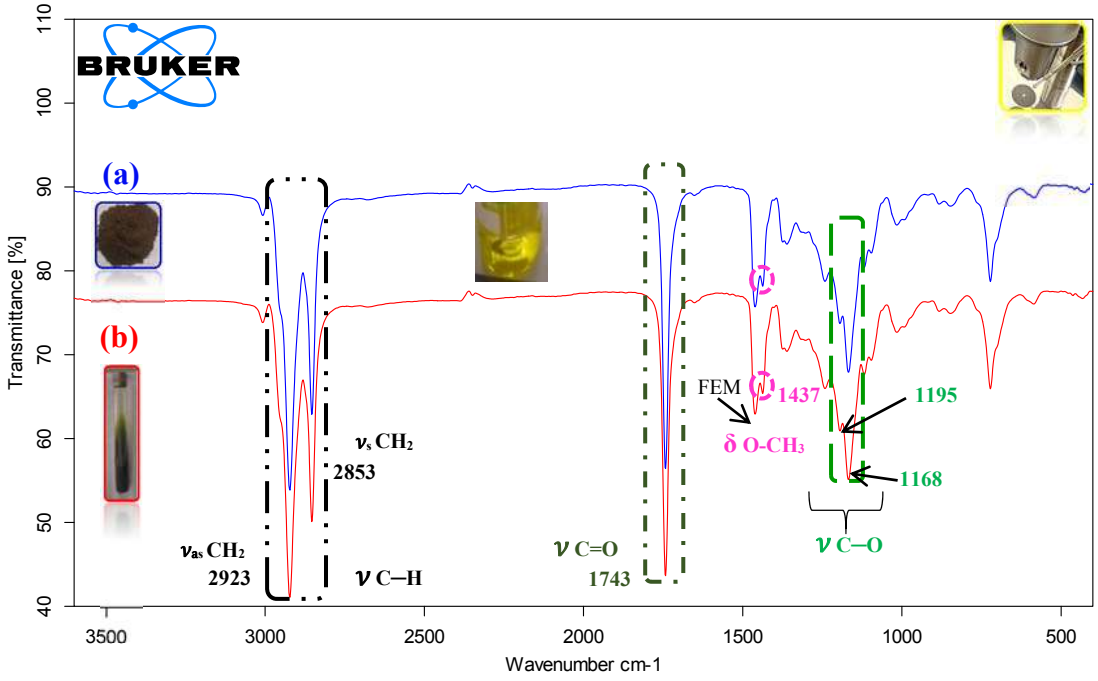


Figure IV.14. Comparaison des spectres infrarouge des esters EMAG$_{GO}$ (a) et EMAG$_{HGO}$ (b)

Les deux spectres (a) et (b) reflètent parfaitement la structure de biodiesel. Ils présentent des bandes caractéristiques, permettant de mettre en avant la présence de fonctions spécifiques

→ 2923 et 2853 cm^{-1}: vibration d'élongation du groupe C─H (asymétrique et symétrique du groupe CH_2) ;

→ 1743 cm^{-1} : vibration d'élongation du groupement carbonyle C=O de la fonction ester;

→ 1437 cm^{-1}: vibration de déformation du groupe O-CH_3 de la fraction d'esters méthyliques (FEM);

→ 1195 et 1168 cm^{-1}: vibration d'élongation du groupement fonctionnel C─O.

Ces résultats confirment que l'utilisation de la biomasse séchée du grignon d'olive directe ou après extraction de son huile pour synthétiser un ester méthylique d'acide gras donne le même produit ayant la même composition chimique.

La surface des pics d'absorption de la bande d'élongation (C-H et C=O) ainsi que la bande de déformation (C-H) de l'HGO et de son ester a été calculée à l'aide du logiciel OPUS software pour la détermination quantitative et le suivi de la réaction d'estérification/ transestérification. Les résultats sont présentés dans le Tableau IV.5.

Tableau IV.5. Surface des bandes d'absorption FT-IR d'HGO et de son biodiesel.

Echantillon	Type de vibration (cm^{-1}) et groupement fonctionnels		
	Elongation C─H	Elongation C=O	Déformation C─H
HGO	17,53	10,77	11,82
EMAG	13,85	4,69	2,99

Une autre évidence sur la conversion de l'HGO en son ester correspondant est que les surfaces des bandes d'absorption de l'EMAG sont bien inférieures à celles de l'HGO, montrant la perte de glycérol de l'huile (glycérides). Ces résultats sont conformes aux études menées par d'autres auteurs pour les esters méthyliques issus de l'huile d'amande amère [262] et de poisson [307] où ils ont noté une diminution de la surface des pics caractéristiques des esters synthétisés par rapport à ceux des huiles d'origine.

IV.3.8. Caractérisation rhéologique des liquides huileux obtenus

On se propose dans cette partie de déterminer le comportement rhéologique de l'HGO extraite et les EMAGs élaborés, par l'établissement de courbes d'écoulement.

Les courbes d'écoulement des échantillons analysés ont été déterminées pour deux températures (20 et 40°C), comme le montre la Figure IV.15. La variation de la contrainte de cisaillement (τ) avec la vitesse de cisaillement (γ), pour l'huile extraite des GO et l'HOV

alimentaire (Figure IV.15-A) est comparée avec celle des esters méthyliques synthétisés ($EMAG_{HGO}$, $EMAG_{GO}$) de l'HGO (Figure IV.15-B).

L'allure des différentes courbes est linéaire passant par l'origine, ce qui permet de conclure que tous les échantillons testés ont un comportement Newtonien aux températures d'essais (20°C et 40°C). On remarque aussi que l'augmentation de la température fait diminuer les pentes qui représentent la viscosité.

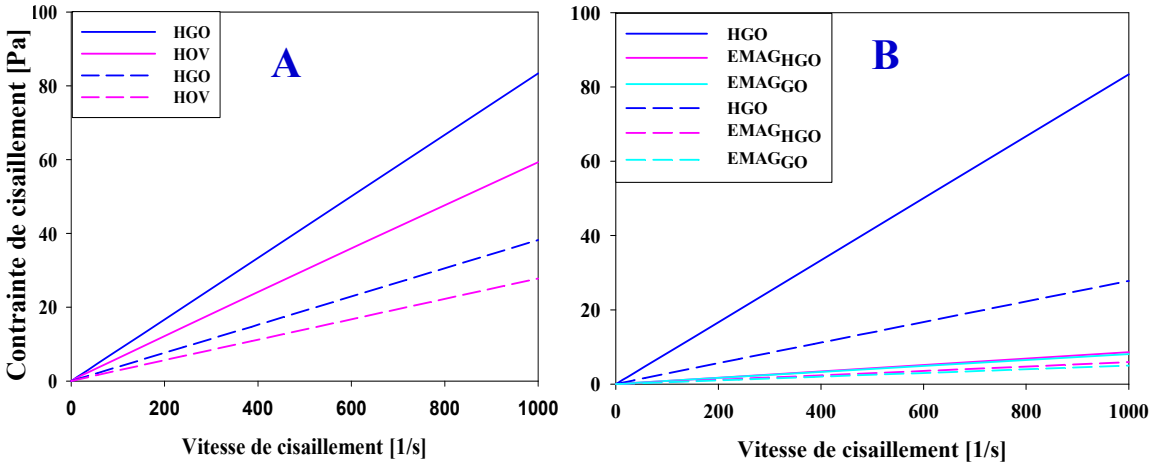


Figure IV.15. Courbes de la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement pour des huiles (HGO, HOV) (A) et des $EMAG_s$ synthétisés (B), à 20 (ligne continue) et à 40°C (ligne discontinue).

D'après la littérature, ce comportement rhéologique (Newtonien) est caractéristique des huiles végétales alimentaires [309] et du mélange biodiesel d'huile de soja avec le pétro-diesel à différents proportions [310] comme indiqué sur les Figures IV.16-C et IV.16-D.

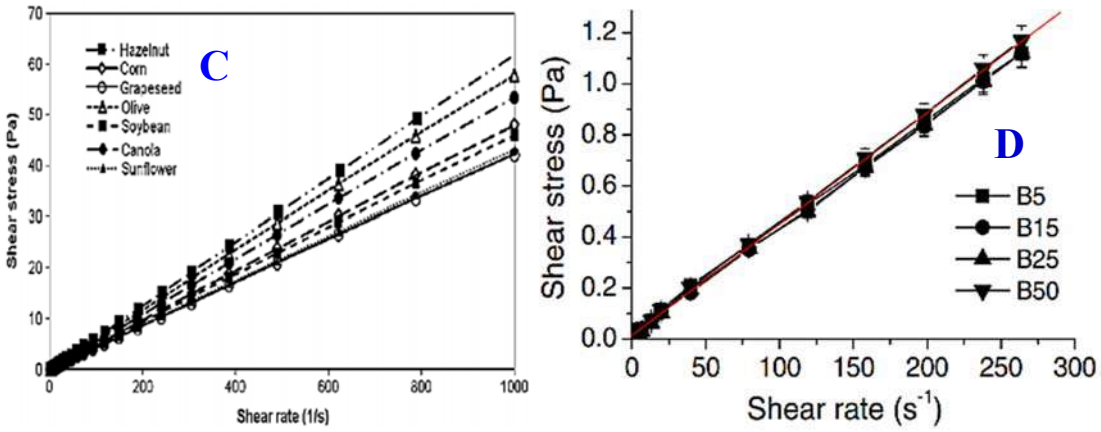


Figure IV.16. Courbes de la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement pour des huiles végétales alimentaire (C) et des mélanges biodiesel d'huile de soja/pétro-diesel (D) [310], à 25°C publiées dans la littérature.

Le comportement Newtonien de l'HGO et des EMAGs ($EMAG_{HGO}$, $EMAG_{GO}$) peut être mieux visualisé sur la Figure IV.17 qui représente les viscosités en fonction de la vitesse de cisaillement. Tel qu'illustré, l'augmentation du taux de cisaillement conduit à une diminution de la viscosité des huiles (HGO et HOV) et des esters synthétisés ($EMAG_{HGO}$, $EMAG_{GO}$), et reste ensuite constante.

La Figure IV.17 montre que tous les échantillons présentent deux comportements différents, un comportement pseudo-plastique suivi par un comportement Newtonien. Cela est en parfait accord avec les résultats obtenus précédemment par d'autres auteurs sur l'huile des grignons d'olive extraite chimiquement par solvant (Figure IV.17-C) et le biodiesel obtenu à partir d'huile de soja mélangé à différents proportion avec le pétro-diesel (Figure IV.17-D).

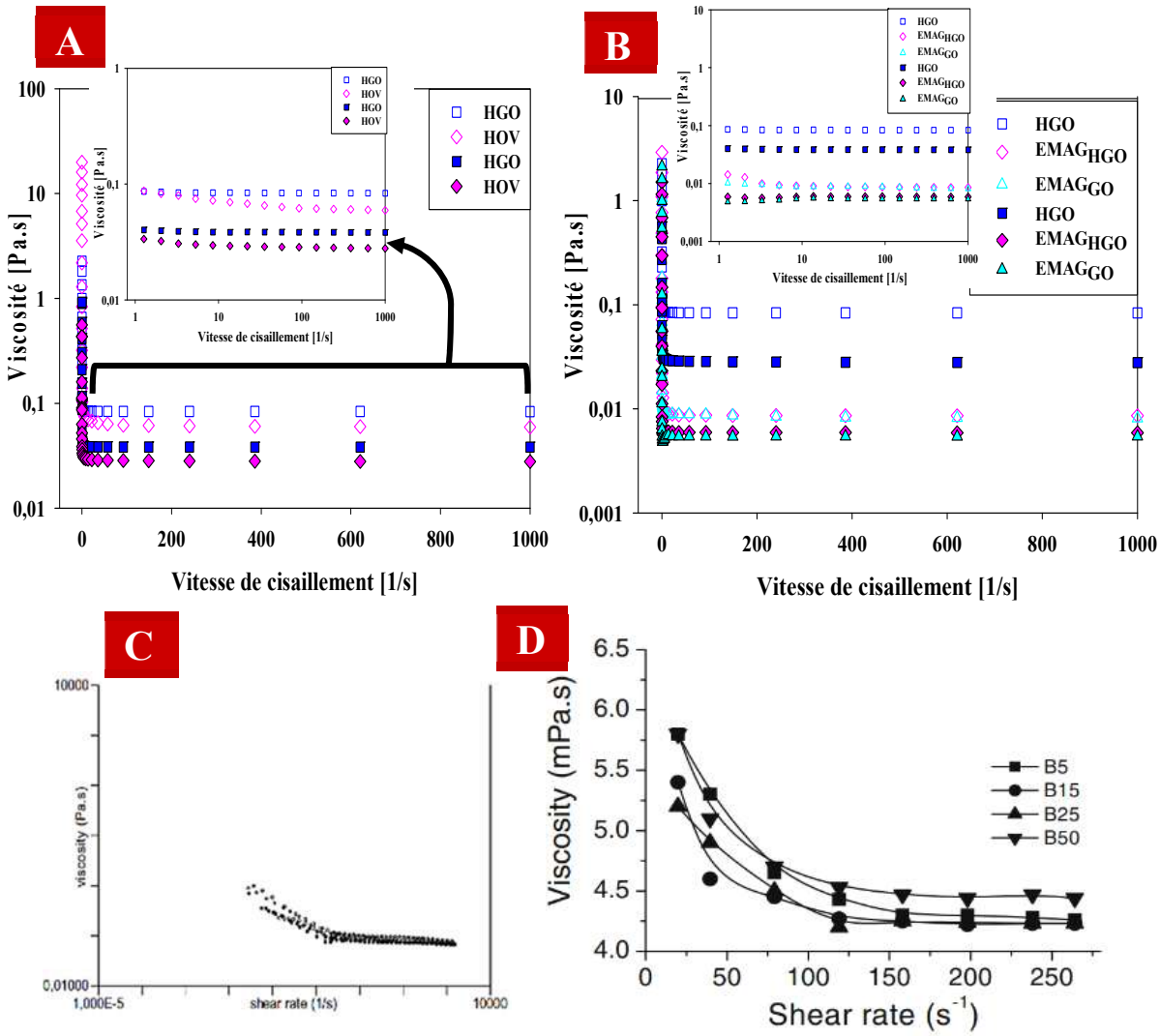


Figure IV.17. Courbes de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour des huiles (HGO, HOV) (A) des EMAGs synthétisés (B), à 20°C (symboles vides) et à 40°C (symboles pleines), de l'HGO (C) [309] et des mélanges biodiesel d'huile de soja/pétro-diesel (D) [310], à 25°C publiées dans la littérature.

Plusieurs auteurs ont souligné que le comportement pseudo-plastique ou rhéo-fluidifiant est souhaitable pour l'écoulement du biodiesel à travers les tubes et les tuyaux car les forces de contrainte appliquées par les pompes réduisent la viscosité du biodiesel. Plus la force de cisaillement appliquée au matériau pseudo-plastique est forte, plus l'effet fluidifiant et la réduction de la viscosité est important, donc, de meilleures propriétés d'écoulement [99,100].

Aussi, sur toutes les gammes de taux de cisaillement et de températures, l'HGO possède une viscosité beaucoup plus élevée que celle de l'HOV alimentaire ou celles des esters (Figures IV.17-A et IV.17-B). La viscosité élevée de l'HGO est cohérente avec les résultats spectraux obtenus par FTIR et peuvent s'expliquer par son oxydation avancée qui provoque la production d'aldéhydes et de cétones, ces dernières augmentent la viscosité de l'huile extraite des grignons d'olive. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Navarra et coll [313]. Ils ont montré qu'après le traitement thermique de l'huile d'olive extra vierge, les valeurs de viscosité ont été augmentées par rapport à l'HOV non traitée, Cela est dû à la présence de composés d'oxydation secondaires qui entraînent une augmentation de la viscosité.

Connaissant la viscosité qui est une grandeur physique dépendante de la pression et notamment de la température, les résultats obtenus sont en bonne coordination avec la réalité physique. En effet, l'augmentation de la température de 20°C à 40°C entraîne la chute de la viscosité de tous les échantillons analysés.

Ceci est dû à un mouvement thermique plus important entre les molécules, ce qui réduit les forces ou les interactions intermoléculaires, rendant l'écoulement entre eux plus facile et réduisant par la suite la viscosité [314]. Le comportement rhéologique dépendant de la température a également été vérifié par Kahn et Forster [103] , [104].

Le principal intérêt de l'utilisation des esters par rapport à leurs huiles est l'abaissement de la viscosité. Sur la Figure IV.17-B, les viscosités de deux biodiésels synthétisées sont inférieures à celles du l'HGO, indiquant l'efficacité du traitement chimique appliqué en deux étapes: estérification/trans-estérification. La viscosité des esters méthyliques produits diminue de l'ordre d'un facteur de 10 (à 20°C) et de 7 (à 40°C). Par exemple, la viscosité de l'HGO à 20 °C a été diminuée de 0,0834 Pa.s à 0,0086 Pa.s ($EMAG_{HGO}$) et 0,0081 Pa.s ($EMAG_{GO}$), lorsque le taux de cisaillement est augmenté de 10^{-3} à 10^{3} s^{-1}.

En comparaison avec la littérature, ces résultats sont en bon accord avec les recherches qui ont montré la diminution de la viscosité de la matière grasse (huiles/graisse) après sa conversion en biodiesel [98].

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale

Le travail présenté dans ce manuscrit avait pour objectif la valorisation des grignons d'olive en biodiesel de deuxième génération et les pellicules d'aubergine en bioproduits (composés phénoliques).

Pour ce faire, on a procédé, lors du premier volet de ce travail à la synthèse et caractérisation du biodiesel à partir des grignons d'olive et de son huile extraite. La biomasse étudiée est caractérisée par une teneur en humidité de 12,51 % et une teneur en lipides totaux égale à 15,19 % MS. Les résultats de l'analyse physicochimique et structurale de l'huile extraite des grignons d'olive (HGO) par l'hexane a révélé des signes d'une forte dégradation. Sa teneur en acides gras libres est estimée à 20,97% d'acide oléique et sa viscosité à 34,76 $mm^2.s^{-1}$. La pré-estérification à catalyse acide suivie par une transestérification basique ont été utilisées dans le but de réduire à la fois la viscosité et l'acidité de l'HGO. Deux méthodes de conversion par la réaction chimique en deux étapes ont été proposées pour produire un biodiesel à base de la biomasse du GO, l'une dite conventionnelle et l'autre in-situ. La première nécessite l'utilisation de l'HGO après son extraction de la matrice d'origine, tandis que la deuxième consiste à réaliser la réaction de l'huile directement dans la biomasse oléagineuse avec l'alcool acidifié en présence d'hexane. Le traitement chimique utilisé en deux étapes a apporté les modifications attendues par production des esters méthyliques d'acides gras (EMAG), assurant à la fois une acidité normalisée (0,32 mg KOH/g $_{biodiesel}$ pour $EMAG_{HGO}$ vs 0,26 mg KOH/g $_{biodiesel}$ pour $EMAG_{GO}$), et une viscosité acceptable (6,19mm^2/s pour $EMAG_{HGO}$ vs 6,17 mm^2/s pour $EMAG_{GO}$).

En plus, les propriétés physiques et chimiques des esters méthyliques produits avec le procédé classique d'extraction-conversion de l'HGO en deux étapes et le procédé in-situ d'extraction-conversion simultanée de l'HGO en une seule étape respectent les consignes des deux normes européennes (EN 14214) et américaine (ASTM D6751). L'EMAG issu de la méthode directe (In-situ) présente un meilleur rendement de 98,46% dans un temps de production extrêmement court (la suppression totale de la pré-extraction d'huile) et de meilleures performances énergétiques relativement à l'indice d'acide, point d'éclair (128°C), l'indice de cétane (50,4), point trouble (-3°C), point de congélation (-8°C) et point d'écoulement (-5°C).

L'analyse structurale par FTIR des produits synthétisés a prouvé que les deux esters méthyliques ($EMAG_{HGO}$) et ($EMAG_{HGO}$) possèdent la structure caractéristique de biodiesel (présence du groupe $O\text{-}CH_3$ de la fraction d'ester méthylique), ce qui se traduit par la conversion

de l'huile en EMAG. L'étude rhéologique aux deux températures 20 et 40°C a illustré un comportement pseudo-plastique suivi par un comportement newtonien pour les deux EMAG élaborés. Ce type du comportement est souhaitable pour l'écoulement du biodiesel.

Dans le deuxième volet, l'accent a été mis sur la récupération des anthocyanines et d'autres composés phénoliques à partir d'aubergine et ses pellicules par diffusion solide-liquide, intensifiée par deux types de prétraitement, à savoir conventionnel (broyage fin) et innovateur (ultrasons à sonde). Le procédé d'extraction a été étudié en termes d'influence des différents paramètres opératoires (pH du solvant, nature du solvant et la température) à partir des pulpes et des pellicules d'aubergine découpées en morceaux d'un côté et complètement broyées d'un autre côté. L'effet des ultrasons sur l'extraction des composés phénoliques a été mis en évidence à travers une étude d'optimisation du temps de traitement.

Les résultats de l'optimisation de l'extraction par diffusion des échantillons découpés en morceaux et broyés ont montré que l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques est tout d'abord dépendante de la partie d'aubergine étudiée (pellicules/pulpes).

L'étude des effets des principales conditions opératoires a permis de conclure que le pH du solvant, la réduction fine de la taille des particules et la température ont été identifiés comme étant les paramètres les plus influents sur l'extraction, conduisant à la concentration en composés phénoliques totaux la plus élevée.

Le broyage fin améliore considérablement de près de 2,4 fois (18,60 vs 7,75 mgEAG/g_{MS} pour les pellicules) et 1,86 fois (9,80 vs 5,25 mgEAG/g_{MS} pour les pulpes) la teneur en composés phénoliques dans les extraits diffusés à 25 °C en comparaison avec ceux issus des échantillons non broyés. Sous les conditions optimales obtenues (pH=2 et une température de 75°C avec broyage), le contenu phénolique des pellicules est 2,95 fois supérieur à celui enregistré pour les pulpes (23,10 mgEAG/g_{MS} pour les pellicules contre 7,83 mgEAG/g_{MS} pour les pulpes).

L'application des US sur les échantillons d'aubergine découpés en morceaux pendant 30 min a permis d'obtenir les quantités les plus élevées en composés phénoliques pour les pellicules ainsi que pour les pulpes. La teneur maximale en composés phénoliques atteinte est de 29,01 mgEAG/g_{MS} contre une teneur de 23,10 mgEAG/g_{MS} après diffusion solide/liquide de pellicules broyées. En plus, l'application des US pour 30 min a permis de multiplier la teneur en composés phénoliques de pellicules découpées en morceaux (diffusées pendant 60 min) d'un facteur de 3,74.

L'étude des extraits de pellicules par l'HPLC a également permis d'identifier et de quantifier (aire des pics) principalement des anthocyanines. Une différence dans la composition des

extraits a été observée. En effet, les pellicules traitées aux US à différents temps sont concentrées en delphinidine-3-rutinoside, delphinidine-3-rutinoside-5-glucoside, malvidine-3-rutinoside-5-glucoside, cyanidine-3-rutinoside et petunidine-3-rutinoside, tandis que les pellicules diffusées pendant 60 min contiennent, quant à elles, que de la delphinidine-3-rutinoside, la delphinidine-3-rutinoside-5-glucoside, et la malvidine-3-rutinoside-5-glucoside.

Les résultats de l'HPLC ont montré que les ultrasons conduisent à une extraction plus sélective qu'une diffusion, en réduisant la consommation énergétique (temps) d'un facteur 2.

Au niveau cellulaire, l'analyse par MEB des résidus de pellicules traités aux US a montré que les conditions choisies pour ce traitement permettent d'endommager les parois et les membranes cellulaires par effet mécanique lié à la cavitation acoustique et que cet effet dépend du temps d'exposition des pellicules aux ultrasons. Pour une durée de 30min sous US, les parois cellulaires de la couche pelliculaire (épidermique) sont plus endommagées permettant l'augmentation de la surface d'échange entre le solide et le liquide et l'amélioration de la libération de leur contenu intracellulaire (anthocyanines) dans le milieu environnant. Ceci a été expliqué par l'augmentation de la teneur en composés anthocyaniques dans les extraits issus des US_{30} par rapport aux témoins (T_{60}).

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante (DPPH) ont montré que les extraits issus des US possèdent une bonne activité antioxydante associée à une concentration inhibitrice CI_{50} de l'ordre 7,048 µg/ml. L'importante capacité inhibitrice du radical DPPH par les extraits US_{30} est attribuée à sa forte teneur en anthocyanines (CLHP). Ceci a été prouvé par la présence de la fonction catéchol (ortho-diphénol sur le cycle B), un élément structural corrélé à une activité antioxydante importante, dans les molécules anthocyanidines glycosylées qu'elles contiennent (delphinidines, cyanidines et petunidines).

Enfin, il faut souligner que ce travail est loin d'être fini et un certain nombre de perspectives de recherches futures peuvent être identifiées à ce stade :

- Sur le biodiesel, il faut effectuer des essais moteurs avec les biodiesels synthétisés, seuls et en mélange avec le diesel, ainsi que l'étude des caractéristiques de combustion, des performances et des émissions polluantes,
- Sur les extraits de pellicules d'aubergine, il faut étudier la séparation et la purification des extraits phénoliques par des méthodes membranaire afin de les concentrer et d'améliorer leur pureté,
- Il faut également trouver des applications des extraits purifiés en les incorporant dans divers produits agroalimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques commercialisables.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1] R. Ravindran et A. K. Jaiswal, « Exploitation of food industry waste for high-value products », *Trends Biotechnol.*, vol. 34, nº 1, p. 58–69, 2016.

[2] N. Mirabella, V. Castellani, et S. Sala, « Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review », *J. Clean. Prod.*, vol. 65, p. 28–41, 2014.

[3] L. P. Koh et J. Ghazoul, « Biofuels, biodiversity, and people: understanding the conflicts and finding opportunities », *Biol. Conserv.*, vol. 141, nº 10, p. 2450–2460, 2008.

[4] M. R. Avhad et J. M. Marchetti, « A review on recent advancement in catalytic materials for biodiesel production », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 50, p. 696–718, 2015.

[5] L. Bhatia, S. Johri, et R. Ahmad, « An economic and ecological perspective of ethanol production from renewable agro waste: a review », *Amb Express*, vol. 2, nº 1, p. 65, 2012.

[6] P. C. Mayanga-Torres *et al.*, « Valorization of coffee industry residues by subcritical water hydrolysis: Recovery of sugars and phenolic compounds », *J. Supercrit. Fluids*, vol. 120, p. 75–85, 2017.

[7] S. Dermeche, M. Nadour, C. Larroche, F. Moulti-Mati, et P. Michaud, « Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies », *Process Biochem.*, vol. 48, nº 10, p. 1532–1552, 2013.

[8] I. R. Fattah, H. H. Masjuki, A. M. Liaquat, R. Ramli, M. A. Kalam, et V. N. Riazuddin, « Impact of various biodiesel fuels obtained from edible and non-edible oils on engine exhaust gas and noise emissions », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 18, p. 552–567, 2013.

[9] C. M. Noor, M. M. Noor, et R. Mamat, « Biodiesel as alternative fuel for marine diesel engine applications: A review », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 94, p. 127–142, 2018.

[10] A. Demirbas, « Progress and recent trends in biodiesel fuels », *Energy Convers. Manag.*, vol. 50, nº 1, p. 14–34, 2009.

[11] L. Bhatia, S. Johri, et R. Ahmad, « An economic and ecological perspective of ethanol production from renewable agro waste: a review », *Amb Express*, vol. 2, nº 1, p. 65, 2012.

[12] M. M. Parascanu, M. P. Gamero, P. Sánchez, G. Soreanu, J. L. Valverde, et L. Sanchez-Silva, « Life cycle assessment of olive pomace valorisation through pyrolysis », *Renew. Energy*, vol. 122, p. 589–601, 2018.

[13] M. Balat, « Possible methods for hydrogen production », *Energy Sources Part Recovery Util. Environ. Eff.*, vol. 31, nº 1, p. 39–50, 2008.

[14] E. Poitrat, « Biocarburants », *Tech. Ing. Génie Énergétique*, vol. 3, nº BE8550, p. BE8550–1, 1999.

[15] A. Demirbas, « Political, economic and environmental impacts of biofuels: A review », *Appl. Energy*, vol. 86, p. S108–S117, 2009.

[16] G. Knothe, « History of vegetable oil-based diesel fuels », in *The Biodiesel Handbook (Second Edition)*, Elsevier, 2010, p. 5–19.

[17] K. D. Maher et D. C. Bressler, « Pyrolysis of triglyceride materials for the production of renewable fuels and chemicals », *Bioresour. Technol.*, vol. 98, nº 12, p. 2351–2368, 2007.

[18] A. K. Azad, M. G. Rasul, M. M. K. Khan, S. C. Sharma, et M. A. Hazrat, « Prospect of biofuels as an alternative transport fuel in Australia », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 43, p. 331–351, 2015.

[19] G. Rodríguez, A. Lama, R. Rodríguez, A. Jiménez, R. Guillén, et J. Fernández-Bolanos, « Olive stone an attractive source of bioactive and valuable compounds », *Bioresour. Technol.*, vol. 99, nº 13, p. 5261–5269, 2008.

[20] S. Dermeche, M. Nadour, C. Larroche, F. Moulti-Mati, et P. Michaud, « Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies », *Process Biochem.*, vol. 48, nº 10, p. 1532–1552, 2013.

[21] L. Di Giovacchino, M. Solinas, et M. Miccoli, « Effect of extraction systems on the quality of virgin olive oil », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 71, nº 11, p. 1189–1194, 1994.

[22] G. Alfano, C. Belli, G. Lustrato, et G. Ranalli, « Pile composting of two-phase centrifuged olive husk residues: technical solutions and quality of cured compost », *Bioresour. Technol.*, vol. 99, nº 11, p. 4694–4701, 2008.

[23] E. Molina-Alcaide et D. R. Yáñez-Ruiz, « Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review », *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 147, nº 1‑3, p. 247–264, 2008.

[24] E. Rosello-Soto *et al.*, « Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: non-conventional methods for the recovery of high-added value compounds », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 45, nº 2, p. 296–310, 2015.

[25] F. Rodrigues, F. B. Pimentel, et M. B. P. Oliveira, « Olive by-products: Challenge application in cosmetic industry », *Ind. Crops Prod.*, vol. 70, p. 116–124, 2015.

[26] D. K. Yanık, « Alternative to traditional olive pomace oil extraction systems: Microwave-assisted solvent extraction of oil from wet olive pomace », *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 77, p. 45–51, 2017.

[27] J. A. Alburquerque, J. Gonzálvez, D. Garcıa, et J. Cegarra, « Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction », *Bioresour. Technol.*, vol. 91, nº 2, p. 195–200, 2004.

[28] F. Akay, A. Kazan, M. S. Celiktas, et O. Yesil-Celiktas, « A holistic engineering approach for utilization of olive pomace », *J. Supercrit. Fluids*, vol. 99, p. 1–7, 2015.

[29] A. Chouchene, « Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produtis oléicoles par voies thermique et physico-chimique », PhD Thesis, Université de Haute Alsace-Mulhouse, 2010.

[30] S. Meziane, « Optimization of oil extraction from olive pomace using response surface methodology », *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 19, nº 4, p. 315–322, 2013.

[31] E. M. Schau, J. A. P. Palomino, G. Michalopoulos, et C. Russo, « Product Environmental Footprint Category Rules for Olive Oil-3rd Draft. Prepared by the Technica Secretariat for Olive Oil », 2016.

[32] J. Van Gerpen, « Biodiesel processing and production », *Fuel Process. Technol.*, vol. 86, nº 10, p. 1097–1107, 2005.

[33] D. Puppan, « Environmental evaluation of biofuels », *Period. Polytech. Soc. Manag. Sci.*, vol. 10, nº 1, p. 95, 2002.

[34] M. M. K. Bhuiya, M. G. Rasul, M. M. K. Khan, N. Ashwath, et A. K. Azad, « Prospects of 2nd generation biodiesel as a sustainable fuel—Part: 1 selection of feedstocks, oil extraction techniques and conversion technologies », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 55, p. 1109–1128, 2016.

[35] S. P. Singh et D. Singh, « Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: a review », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 14, nº 1, p. 200–216, 2010.

[36] P. K. Devan et N. V. Mahalakshmi, « Study of the performance, emission and combustion characteristics of a diesel engine using poon oil-based fuels », *Fuel Process. Technol.*, vol. 90, nº 4, p. 513–519, 2009.

[37] M. Y. Koh et T. I. M. Ghazi, « A review of biodiesel production from Jatropha curcas L. oil », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 15, nº 5, p. 2240–2251, 2011.

[38] A. Gashaw, T. Getachew, et A. Teshita, « A Review on biodiesel production as alternative fuel », *J Prod Ind*, vol. 4, p. 80–85, 2015.

[39] J. B. de Andrade *et al.*, « Biodiesel: An Overview–J », *Braz Chem Soc*, vol. 16, nº 6B, p. 1313–1330, 2005.
[40] A. W. Schwab, M. O. Bagby, et B. Freedman, « Preparation and properties of diesel fuels from vegetable oils », *Fuel*, vol. 66, nº 10, p. 1372–1378, 1987.
[41] A. Demirbas, « Comparison of transesterification methods for production of biodiesel from vegetable oils and fats », *Energy Convers. Manag.*, vol. 49, nº 1, p. 125–130, 2008.
[42] M. Balat et H. Balat, « A critical review of bio-diesel as a vehicular fuel », *Energy Convers. Manag.*, vol. 49, nº 10, p. 2727–2741, 2008.
[43] M. Berrios, J. Siles, M. A. Martin, et A. Martin, « A kinetic study of the esterification of free fatty acids (FFA) in sunflower oil », *Fuel*, vol. 86, nº 15, p. 2383–2388, 2007.
[44] H. J. Berchmans et S. Hirata, « Biodiesel production from crude Jatropha curcas L. seed oil with a high content of free fatty acids », *Bioresour. Technol.*, vol. 99, nº 6, p. 1716–1721, 2008.
[45] K. Bozbas, « Biodiesel as an alternative motor fuel: production and policies in the European Union », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 12, nº 2, p. 542–552, 2008.
[46] A. Hayyan *et al.*, « Reduction of high content of free fatty acid in sludge palm oil via acid catalyst for biodiesel production », *Fuel Process. Technol.*, vol. 92, nº 5, p. 920–924, 2011.
[47] X. Yuan, J. Liu, G. Zeng, J. Shi, J. Tong, et G. Huang, « Optimization of conversion of waste rapeseed oil with high FFA to biodiesel using response surface methodology », *Renew. Energy*, vol. 33, nº 7, p. 1678–1684, 2008.
[48] V. Lertsathapornsuk, R. Pairintra, K. Aryusuk, et K. Krisnangkura, « Microwave assisted in continuous biodiesel production from waste frying palm oil and its performance in a 100 kW diesel generator », *Fuel Process. Technol.*, vol. 89, nº 12, p. 1330–1336, 2008.
[49] V. B. Borugadda et V. V. Goud, « Biodiesel production from renewable feedstocks: status and opportunities », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 16, nº 7, p. 4763–4784, 2012.
[50] J. Zeng, X. Wang, B. Zhao, J. Sun, et Y. Wang, « Rapid in situ transesterification of sunflower oil », *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 48, nº 2, p. 850–856, 2008.
[51] M. J. Haas, A. J. McAloon, W. C. Yee, et T. A. Foglia, « A process model to estimate biodiesel production costs », *Bioresour. Technol.*, vol. 97, nº 4, p. 671–678, 2006.
[52] F. H. Kasim, A. P. Harvey, et R. Zakaria, « Biodiesel production by in situ transesterification », *Biofuels*, vol. 1, nº 2, p. 355–365, 2010.
[53] P. Nautiyal, K. A. Subramanian, et M. G. Dastidar, « Production and characterization of biodiesel from algae », *Fuel Process. Technol.*, vol. 120, p. 79–88, 2014.
[54] E. A. Ehimen, Z. F. Sun, et C. G. Carrington, « Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids », *Fuel*, vol. 89, nº 3, p. 677–684, 2010.
[55] M. Balat et H. Balat, « Progress in biodiesel processing », *Appl. Energy*, vol. 87, nº 6, p. 1815–1835, 2010.
[56] G. Knothe, « Analyzing biodiesel: standards and other methods », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 83, nº 10, p. 823–833, 2006.
[57] A. Murugesan, C. Umarani, T. R. Chinnusamy, M. Krishnan, R. Subramanian, et N. Neduzchezhain, « Production and analysis of bio-diesel from non-edible oils—a review », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 13, nº 4, p. 825–834, 2009.
[58] C. A. Allen, K. C. Watts, R. G. Ackman, et M. J. Pegg, « Predicting the viscosity of biodiesel fuels from their fatty acid ester composition », *Fuel*, vol. 78, nº 11, p. 1319–1326, 1999.
[59] A. E. Atabani, A. S. Silitonga, I. A. Badruddin, T. M. I. Mahlia, H. H. Masjuki, et S. Mekhilef, « A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 16, nº 4, p. 2070–2093, 2012.

[60] C. Haşimoğlu, M. Ciniviz, İ. Özsert, Y. İçingür, A. Parlak, et M. S. Salman, « Performance characteristics of a low heat rejection diesel engine operating with biodiesel », *Renew. Energy*, vol. 33, nº 7, p. 1709–1715, 2008.
[61] S. K. Hoekman, A. Broch, C. Robbins, E. Ceniceros, et M. Natarajan, « Review of biodiesel composition, properties, and specifications », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 16, nº 1, p. 143–169, 2012.
[62] C. Boshui, S. Yuqiu, F. Jianhua, W. Jiu, et W. Jiang, « Effect of cold flow improvers on flow properties of soybean biodiesel », *Biomass Bioenergy*, vol. 34, nº 9, p. 1309–1313, 2010.
[63] L. C. Meher, D. V. Sagar, et S. N. Naik, « Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 10, nº 3, p. 248–268, 2006.
[64] M. Canakci, A. N. Ozsezen, et A. Turkcan, « Combustion analysis of preheated crude sunflower oil in an IDI diesel engine », *Biomass Bioenergy*, vol. 33, nº 5, p. 760–767, 2009.
[65] A. E. Atabani *et al.*, « Non-edible vegetable oils: a critical evaluation of oil extraction, fatty acid compositions, biodiesel production, characteristics, engine performance and emissions production », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 18, p. 211–245, 2013.
[66] V. K. Mishra et R. Goswami, « A review of production, properties and advantages of biodiesel », *Biofuels*, vol. 9, nº 2, p. 273–289, 2018.
[67] R. O. Dunn, « Effects of minor constituents on cold flow properties and performance of biodiesel », *Prog. Energy Combust. Sci.*, vol. 35, nº 6, p. 481–489, 2009.
[68] R. M. Joshi et M. J. Pegg, « Flow properties of biodiesel fuel blends at low temperatures », *Fuel*, vol. 86, nº 1‑2, p. 143–151, 2007.
[69] S. Fernando, P. Karra, R. Hernandez, et S. K. Jha, « Effect of incompletely converted soybean oil on biodiesel quality », *Energy*, vol. 32, nº 5, p. 844–851, 2007.
[70] C.-Y. Lin, « Strategies for promoting biodiesel use in marine vessels », *Mar. Policy*, vol. 40, p. 84–90, 2013.
[71] J. C. Escobar, E. S. Lora, O. J. Venturini, E. E. Yáñez, E. F. Castillo, et O. Almazan, « Biofuels: environment, technology and food security », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 13, nº 6‑7, p. 1275–1287, 2009.
[72] C. Koechlin-Ramonatxo, « Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases », *Nutr. Clin. Métabolisme*, vol. 20, nº 4, p. 165, 2006.
[73] B. Halliwell et J. M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA, 2015.
[74] A. Favier, « Oxidative stress in human diseases », in *Annales pharmaceutiques françaises*, 2006, vol. 64, p. 390–396.
[75] O. Sorg, « Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? », *C. R. Biol.*, vol. 327, nº 7, p. 649–662, 2004.
[76] C. Poisson-Moreau de Lizorieux, « Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique », PhD Thesis, Paris 11, 2013.
[77] J. Mataix, J. L. Quiles, J. R. Huertas, M. Battino, et M. Mañas, « Tissue specific interactions of exercise, dietary fatty acids, and vitamin E in lipid peroxidation », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 24, nº 4, p. 511–521, 1998.
[78] H. Sies, « Oxidative stress: oxidants and antioxidants », *Exp. Physiol. Transl. Integr.*, vol. 82, nº 2, p. 291–295, 1997.
[79] J. C. Stoclet et V. Schini-Kerth, « Dietary flavonoids and human health », in *Annales pharmaceutiques francaises*, 2011, vol. 69, p. 78–90.

[80] J. M. Gutteridge et B. Halliwell, « The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems », *Trends Biochem. Sci.*, vol. 15, nº 4, p. 129–135, 1990.
[81] C. Rice-Evans, « Plant polyphenols: free radical scavengers or chain-breaking antioxidants? », in *Biochemical Society Symposia*, 1995, vol. 61, p. 103–116.
[82] J. Carange, « Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection? », PhD Thesis, Université du Québec à Trois-Rivières, 2010.
[83] E. Esposito, D. Rotilio, V. Di Matteo, C. Di Giulio, M. Cacchio, et S. Algeri, « A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes », *Neurobiol. Aging*, vol. 23, nº 5, p. 719–735, 2002.
[84] F. Virgili et M. Marino, « Regulation of cellular signals from nutritional molecules: a specific role for phytochemicals, beyond antioxidant activity », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 45, nº 9, p. 1205–1216, 2008.
[85] S. Quideau, D. Deffieux, C. Douat-Casassus, et L. Pouysegu, « Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis », *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 50, nº 3, p. 586–621, 2011.
[86] M. Owais, I. Ahmad, S. Khan, U. Khan, et N. Ahmad, « An alternative holistic medicinal approach to the total management of hepatic disorders: a novel polyherbal formulation », *Mod. Phytomedicine Turn. Med. Plants Drugs*, p. 233–245, 2006.
[87] V. Cheynier et P. Sarni-Manchado, « Les polyphénols en agroalimentaire », *Paris Lavoisier Tec Doc*, p. 50–59, 2006.
[88] P. A. Hollman *et al.*, « Antioxidant activity of polyphenols and cardiovascular health: application of the PASSCLAIM criteria », *J Nutr*, 2010.
[89] J.-J. Macheix, A. Fleuriet, et C. Jay-Allemand, *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques, 2005.
[90] B. B. Buchanan, W. Gruissem, et R. L. Jones, *Biochemistry & molecular biology of plants*, vol. 40. American Society of Plant Physiologists Rockville, MD, 2000.
[91] A. Downham et P. Collins, « Colouring our foods in the last and next millennium », *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 35, nº 1, p. 5–22, 2000.
[92] G.-W. von Rymon Lipinski, « Sweeteners », in *Biotechnology of Food and Feed Additives*, Springer, 2013, p. 1–28.
[93] T. Fukai, A. Marumo, K. Kaitou, T. Kanda, S. Terada, et T. Nomura, « Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant Staphylococcus aureus », *Fitoterapia*, vol. 73, nº 6, p. 536–539, 2002.
[94] T. P. Anunciato et P. A. da Rocha Filho, « Carotenoids and polyphenols in nutricosmetics, nutraceuticals, and cosmeceuticals », *J. Cosmet. Dermatol.*, vol. 11, nº 1, p. 51–54, 2012.
[95] F. Menaa, A. Menaa, et J. Tréton, « Polyphenols against skin aging », in *Polyphenols in Human Health and Disease*, Elsevier, 2014, p. 819–830.
[96] M. J. R. Vaquero, M. R. Alberto, et M. C. M. de Nadra, « Influence of phenolic compounds from wines on the growth of Listeria monocytogenes », *Food Control*, vol. 18, nº 5, p. 587–593, 2007.
[97] N. Balasundram, K. Sundram, et S. Samman, « Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses », *Food Chem.*, vol. 99, nº 1, p. 191–203, 2006.
[98] N. P. Seeram et M. G. Nair, « Inhibition of lipid peroxidation and structure- activity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, nº 19, p. 5308–5312, 2002.

[99] J. Dai et R. J. Mumper, « Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties », *Molecules*, vol. 15, nº 10, p. 7313–7352, 2010.
[100] N. Boussetta, « Intensification de l'extraction des polyphénols par électrotechnologies pour la valorisation des marcs de Champagne », PhD Thesis, Compiègne, 2010.
[101] N. J. Miller, « The relative antioxidant activities of plantderived polyphenolic flavonoids », *Nat. Antioxid. Food Qual. Atheroscler. Cancer Prev.*, p. 256–259, 1996.
[102] J. Hadj Salem, « Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de Nitraria retusa et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique », PhD Thesis, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL, 2009.
[103] W. Peschel *et al.*, « An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes », *Food Chem.*, vol. 97, nº 1, p. 137–150, 2006.
[104] B. Timbo, « Etude phytochimique et des activités biologiques de Trichilia emetica Vahl (Meliaceae) », PhD Thesis, thèse de pharmacie Bamako (Mali) 108, 2003.
[105] P. Mattila, J. Hellström, et R. Törrönen, « Phenolic acids in berries, fruits, and beverages », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, nº 19, p. 7193–7199, 2006.
[106] C. R. Wellwood et R. A. Cole, « Relevance of carnosic acid concentrations to the selection of rosemary, Rosmarinus officinalis (L.), accessions for optimization of antioxidant yield », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, nº 20, p. 6101–6107, 2004.
[107] J.-L. Mau, E. Y. Lai, N.-P. Wang, C.-C. Chen, C.-H. Chang, et C.-C. Chyau, « Composition and antioxidant activity of the essential oil from Curcuma zedoaria », *Food Chem.*, vol. 82, nº 4, p. 583–591, 2003.
[108] M. Naczk, R. Amarowicz, A. Sullivan, et F. Shahidi, « Current research developments on polyphenolics of rapeseed/canola: a review », *Food Chem.*, vol. 62, nº 4, p. 489–502, 1998.
[109] M. K. Zainol, A. Abd-Hamid, S. Yusof, et R. Muse, « Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of Centella asiatica (L.) Urban », *Food Chem.*, vol. 81, nº 4, p. 575–581, 2003.
[110] N. Boussetta, N. Lebovka, E. Vorobiev, H. Adenier, C. Bedel-Cloutour, et J.-L. Lanoiselle, « Electrically assisted extraction of soluble matter from chardonnay grape skins for polyphenol recovery », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, nº 4, p. 1491–1497, 2009.
[111] P. S. Rodis, V. T. Karathanos, et A. Mantzavinou, « Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, nº 3, p. 596–601, 2002.
[112] S. Gorinstein *et al.*, « Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears », *J. Sci. Food Agric.*, vol. 82, nº 10, p. 1166–1170, 2002.
[113] A. Al-Weshahy et A. V. Rao, « Isolation and characterization of functional components from peel samples of six potatoes varieties growing in Ontario », *Food Res. Int.*, vol. 42, nº 8, p. 1062–1066, 2009.
[114] S. N. El et S. Karakaya, « Olive tree (Olea europaea) leaves: potential beneficial effects on human health », *Nutr. Rev.*, vol. 67, nº 11, p. 632–638, 2009.
[115] R.-S. Chen, P.-L. Wu, et R. Y.-Y. Chiou, « Peanut roots as a source of resveratrol », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, nº 6, p. 1665–1667, 2002.
[116] R. Farhoosh, G. A. Golmovahhed, et M. H. Khodaparast, « Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (Camellia sinensis L.) », *Food Chem.*, vol. 100, nº 1, p. 231–236, 2007.
[117] F. J. Barba, Z. Zhu, M. Koubaa, A. S. Sant'Ana, et V. Orlien, « Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: a review », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 49, p. 96–109, 2016.
[118] E. Rosello-Soto *et al.*, « Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: non-conventional

methods for the recovery of high-added value compounds », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 45, nº 2, p. 296–310, 2015.
[119] O. Santana-Méridas, A. González-Coloma, et R. Sánchez-Vioque, « Agricultural residues as a source of bioactive natural products », *Phytochem. Rev.*, vol. 11, nº 4, p. 447–466, 2012.
[120] G. Niño-Medina, V. Urías-Orona, M. D. Muy-Rangel, et J. B. Heredia, « Structure and content of phenolics in eggplant (Solanum melongena)-a review », *South Afr. J. Bot.*, vol. 111, p. 161–169, 2017.
[121] M.-C. Daunay, « Eggplant », in *Vegetables II*, Springer, 2008, p. 163–220.
[122] F. FAOSTAT, « Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division », *Rome FAO*, 2015.
[123] M. V. Rajam et S. V. Kumar, « Eggplant », in *Transgenic Crops IV*, Springer, 2007, p. 201–219.
[124] F. Kluza, M. Domin, S. Wolak, et H. Buczkowska, « Effect of chilling and freezing on selected properties of eggplant Solanum melongena L. », *Agric. Eng.*, vol. 3, nº 2, p. 03, 2000.
[125] R. M. Esteban, E. M. Molla, L. M. Robredo, et F. J. Lopez-Andreu, « Changes in the chemical composition of eggplant fruits during development and ripening », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 40, nº 6, p. 998–1000, 1992.
[126] T. Docimo *et al.*, « Phenylpropanoids accumulation in eggplant fruit: characterization of biosynthetic genes and regulation by a MYB transcription factor », *Front. Plant Sci.*, vol. 6, p. 1233, 2016.
[127] G. Cao, E. Sofic, et R. L. Prior, « Antioxidant capacity of tea and common vegetables », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 44, nº 11, p. 3426–3431, 1996.
[128] G. Niño-Medina, V. Urías-Orona, M. D. Muy-Rangel, et J. B. Heredia, « Structure and content of phenolics in eggplant (Solanum melongena)-a review », *South Afr. J. Bot.*, vol. 111, p. 161–169, 2017.
[129] R. J. Robbins, « Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, nº 10, p. 2866–2887, 2003.
[130] M. N. Clifford, « Chlorogenic acids and other cinnamates–nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism », *J. Sci. Food Agric.*, vol. 80, nº 7, p. 1033–1043, 2000.
[131] P. Mattila et J. Hellström, « Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products », *J. Food Compos. Anal.*, vol. 20, nº 3‑4, p. 152–160, 2007.
[132] K. E. Heim, A. R. Tagliaferro, et D. J. Bobilya, « Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships », *J. Nutr. Biochem.*, vol. 13, nº 10, p. 572–584, 2002.
[133] S. Passamonti *et al.*, « Bioavailability of flavonoids: a review of their membrane transport and the function of bilitranslocase in animal and plant organisms », *Curr. Drug Metab.*, vol. 10, nº 4, p. 369–394, 2009.
[134] C. Chanforan, « Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation: études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate », 2010.
[135] P. Ribéreau-Gayon, *Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon,...* Dunod, 1968.
[136] A. Ghestem, E. Seguin, M. Paris, et A. M. Orecchioni, « Le préparateur en pharmacie, dossier 2, Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie », *Homéopathie Ed TEC DOC*, 2001.

[137] J. Valls, S. Millán, M. P. Martí, E. Borràs, et L. Arola, « Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols », *J. Chromatogr. A*, vol. 1216, nº 43, p. 7143–7172, 2009.
[138] S. de Pascual-Teresa et M. T. Sanchez-Ballesta, « Anthocyanins: from plant to health », *Phytochem. Rev.*, vol. 7, nº 2, p. 281–299, 2008.
[139] L. Chalker-Scott, « Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses », *Photochem. Photobiol.*, vol. 70, nº 1, p. 1–9, 1999.
[140] O. M. Andersen et K. R. Markham, *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. CRC press, 2005.
[141] F. C. Stintzing et R. Carle, « Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 15, nº 1, p. 19–38, 2004.
[142] C. Perret, « Analyse de tannins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par Botrytis cinerea Pers.: Fr », PhD Thesis, Université de Neuchâtel, 2001.
[143] J.-M. Kong, L.-S. Chia, N.-K. Goh, T.-F. Chia, et R. Brouillard, « Analysis and biological activities of anthocyanins », *Phytochemistry*, vol. 64, nº 5, p. 923–933, 2003.
[144] H. Li *et al.*, « Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities », *Food Res. Int.*, vol. 46, nº 1, p. 250–259, 2012.
[145] R. Brouillard, *Chemical structure of anthocyanins*, vol. 1. Academic Press: New York, 1982.
[146] C. T. da Costa, B. C. Nelson, S. A. Margolis, et D. Horton, « Separation of blackcurrant anthocyanins by capillary zone electrophoresis », *J. Chromatogr. A*, vol. 799, nº 1‑2, p. 321–327, 1998.
[147] R. Brouillard et J.-E. Dubois, « Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acidic media », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 99, nº 5, p. 1359–1364, 1977.
[148] K. Robards, P. D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang, et W. Glover, « Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits », *Food Chem.*, vol. 66, nº 4, p. 401–436, 1999.
[149] P. M. Hanson, R.-Y. Yang, S. C. Tsou, D. Ledesma, L. Engle, et T.-C. Lee, « Diversity in eggplant (Solanum melongena) for superoxide scavenging activity, total phenolics, and ascorbic acid », *J. Food Compos. Anal.*, vol. 19, nº 6‑7, p. 594–600, 2006.
[150] R. Khan, G. R. Rao, et S. Baksh, « Cytogenetics of Solanum integrifolium and its possible use in eggplant breeding [India]. », *Indian J. Genet. Plant Breed.*, 1979.
[151] V. Kashyap *et al.*, « Biotechnology of eggplant », *Sci. Hortic.*, vol. 97, nº 1, p. 1–25, 2003.
[152] S. Sudheesh, G. Presannakumar, S. Vijayakumar, et N. R. Vijayalakshmi, « Hypolipidemic effect of flavonoids from Solanum melongena », *Plant Foods Hum. Nutr.*, vol. 51, nº 4, p. 321–330, 1997.
[153] P. R. Guimarães *et al.*, « Eggplant (Solanum melongena) infusion has a modest and transitory effect on hypercholesterolemic subjects », *Braz. J. Med. Biol. Res.*, vol. 33, nº 9, p. 1027–1036, 2000.
[154] N. C. Chen et H. M. Li, « Cultivation and breeding of eggplant », in *Training Workshop on Vegetable Cultivation and Seed Production*, 1996.
[155] C. Kaur, S. Nagal, J. Nishad, et R. Kumar, « Evaluating eggplant (Solanum melongena L) genotypes for bioactive properties: A chemometric approach », *Food Res. Int.*, vol. 60, p. 205–211, 2014.
[156] A. Moure *et al.*, « Natural antioxidants from residual sources », *Food Chem.*, vol. 72, nº 2, p. 145–171, 2001.
[157] J. M. Aguilera et D. W. Stanley, *Microstructural principles of food processing and engineering*. Springer Science & Business Media, 1999.

[158] S. Bassil, « Etude de la répartition structurale des acides féruliques et p-coumarique dans la chènevotte et la poudre organique de chanvre (Cannabis sativa). Exploration des voies de fractionnement pour l'obtention d'extraits à valeur ajoutée », PhD Thesis, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2015.
[159] N. El Darra, « Les composés phénoliques des raisins: étude du potentiel qualitatif et des procédés émergeants d'extraction », PhD Thesis, Compiègne, 2013.
[160] R. R. Watson, *Polyphenols in plants: isolation, purification and extract preparation*. Academic Press, 2018.
[161] L. Boulekbache-Makhlouf, L. Medouni, S. Medouni-Adrar, L. Arkoub, et K. Madani, « Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant », *Ind. Crops Prod.*, vol. 49, p. 668–674, 2013.
[162] N. Ruenroengklin, J. Zhong, X. Duan, B. Yang, J. Li, et Y. Jiang, « Effects of various temperatures and pH values on the extraction yield of phenolics from litchi fruit pericarp tissue and the antioxidant activity of the extracted anthocyanins », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 9, nº 7, p. 1333–1341, 2008.
[163] M. Naczk et F. Shahidi, « Extraction and analysis of phenolics in food », *J. Chromatogr. A*, vol. 1054, nº 1‑2, p. 95–111, 2004.
[164] H. Li *et al.*, « Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities », *Food Res. Int.*, vol. 46, nº 1, p. 250–259, 2012.
[165] G. Paganga, N. Miller, et C. A. Rice-Evans, « The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute? », *Free Radic. Res.*, vol. 30, nº 2, p. 153–162, 1999.
[166] G. Spigno, L. Tramelli, et D. M. De Faveri, « Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics », *J. Food Eng.*, vol. 81, nº 1, p. 200–208, 2007.
[167] B. Pekić, V. Kovač, E. Alonso, et E. Revilla, « Study of the extraction of proanthocyanidins from grape seeds », *Food Chem.*, vol. 61, nº 1‑2, p. 201–206, 1998.
[168] M. Pinelo, P. Del Fabbro, L. Manzocco, M. J. Nuñez, et M. C. Nicoli, « Optimization of continuous phenol extraction from Vitis vinifera byproducts », *Food Chem.*, vol. 92, nº 1, p. 109–117, 2005.
[169] F. Bonilla, M. Mayen, J. Merida, et M. Medina, « Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants », *Food Chem.*, vol. 66, nº 2, p. 209–215, 1999.
[170] Y. Yilmaz et R. T. Toledo, « Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols », *J. Food Compos. Anal.*, vol. 19, nº 1, p. 41–48, 2006.
[171] J. Urbanová *et al.*, « Isolation of quaternary benzo [c] phenanthridine alkaloids from Macleaya microcarpa (maxim.) FEDDE: Comparison of maceration, soxhlet extraction and pressurised liquid extraction », *Phytochem. Anal.*, vol. 23, nº 5, p. 477–482, 2012.
[172] T.-I. Lafka, V. Sinanoglou, et E. S. Lazos, « On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes », *Food Chem.*, vol. 104, nº 3, p. 1206–1214, 2007.
[173] D. Pradal, « Eco-procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire », PhD Thesis, Lille 1, 2016.
[174] A. Thirunavukkarasu et R. Nithya, « Response surface optimization of critical extraction parameters for anthocyanin from Solanum melongena », *J Bioprocess Biotech*, vol. 1, p. 1–4, 2011.
[175] C. M. Galanakis, « Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 26, nº 2, p. 68–87, 2012.

[176] A. Bucić-Kojić, M. Planinić, S. Tomas, M. Bilić, et D. Velić, « Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds », *J. Food Eng.*, vol. 81, n° 1, p. 236–242, 2007.
[177] X. Yu, « Valorisation de la biomasse lignocellulosique humide par la mise en place de procédés d'extraction et de séparation des polyphénols et des protéines: cas des tiges de colza », PhD Thesis, Compiègne, 2015.
[178] J. E. Cacace et G. Mazza, « Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries », *J. Food Eng.*, vol. 59, n° 4, p. 379–389, 2003.
[179] F. J. Barba, Z. Zhu, M. Koubaa, A. S. Sant'Ana, et V. Orlien, « Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: a review », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 49, p. 96–109, 2016.
[180] G. F. Barbero, A. Liazid, M. Palma, et C. G. Barroso, « Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers », *Talanta*, vol. 75, n° 5, p. 1332–1337, 2008.
[181] M. A. Rostagno, M. Palma, et C. G. Barroso, « Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones », *J. Chromatogr. A*, vol. 1012, n° 2, p. 119–128, 2003.
[182] D. Knorr, M. Zenker, V. Heinz, et D.-U. Lee, « Applications and potential of ultrasonics in food processing », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 15, n° 5, p. 261–266, 2004.
[183] T. S. Awad, H. A. Moharram, O. E. Shaltout, D. Asker, et M. M. Youssef, « Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review », *Food Res. Int.*, vol. 48, n° 2, p. 410–427, 2012.
[184] F. Chemat, N. Rombaut, A.-G. Sicaire, A. Meullemiestre, A.-S. Fabiano-Tixier, et M. Abert-Vian, « Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review », *Ultrason. Sonochem.*, vol. 34, p. 540–560, 2017.
[185] H. M. Santos et J. L. Capelo, « Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment », *Talanta*, vol. 73, n° 5, p. 795–802, 2007.
[186] F. Dranca et M. Oroian, « Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (Solanum melongena L.) peel », *Ultrason. Sonochem.*, vol. 31, p. 637–646, 2016.
[187] F. Dranca et M. Oroian, « Total Monomeric Anthocyanin, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Extracts from Eggplant (S olanum Melongena L.) Peel Using Ultrasonic Treatments », *J. Food Process Eng.*, vol. 40, n° 1, p. e12312, 2017.
[188] K. Philippi, N. Tsamandouras, S. Grigorakis, et D. P. Makris, « Ultrasound-assisted green extraction of eggplant peel (Solanum melongena) polyphenols using aqueous mixtures of glycerol and ethanol: optimisation and kinetics », *Environ. Process.*, vol. 3, n° 2, p. 369–386, 2016.
[189] T. Michel, « Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophae rhamnoides) », PhD Thesis, Université d'Orléans, 2011.
[190] F. Chemat et M. K. Khan, « Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction », *Ultrason. Sonochem.*, vol. 18, n° 4, p. 813–835, 2011.
[191] M. Ashokkumar, « The characterization of acoustic cavitation bubbles–an overview », *Ultrason. Sonochem.*, vol. 18, n° 4, p. 864–872, 2011.
[192] T. J. Mason, L. Paniwnyk, et J. P. Lorimer, « The uses of ultrasound in food technology », *Ultrason. Sonochem.*, vol. 3, n° 3, p. S253–S260, 1996.
[193] E. B. Flint et K. S. Suslick, « The temperature of cavitation », *Science*, vol. 253, n° 5026, p. 1397–1399, 1991.
[194] K. S. Suslick et G. J. Price, « Applications of ultrasound to materials chemistry », *Annu. Rev. Mater. Sci.*, vol. 29, n° 1, p. 295–326, 1999.

[195] J. L. Luque-Garcıa et M. L. De Castro, « Ultrasound: a powerful tool for leaching », *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 22, nº 1, p. 41–47, 2003.
[196] T. J Mason, F. Chemat, et M. Vinatoru, « The extraction of natural products using ultrasound or microwaves », *Curr. Org. Chem.*, vol. 15, nº 2, p. 237–247, 2011.
[197] M. Romdhane et C. Gourdon, « Investigation in solid–liquid extraction: influence of ultrasound », *Chem. Eng. J.*, vol. 87, nº 1, p. 11–19, 2002.
[198] E. Roselló-Soto *et al.*, « Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 42, nº 2, p. 134–149, 2015.
[199] M. Naczk et F. Shahidi, « Extraction and analysis of phenolics in food », *J. Chromatogr. A*, vol. 1054, nº 1‑2, p. 95–111, 2004.
[200] P. Schofield, D. M. Mbugua, et A. N. Pell, « Analysis of condensed tannins: a review », *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 91, nº 1‑2, p. 21–40, 2001.
[201] M. I. de G. Pelozo, M. L. C. Cardoso, et J. C. P. de Mello, « Spectrophotometric determination of tannins and caffeine in preparations from Paullinia cupana var. sorbilis », *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 51, nº 3, p. 447–451, 2008.
[202] V. L. Singleton et J. A. Rossi, « Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents », *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 16, nº 3, p. 144–158, 1965.
[203] P. Ribéreau-Gayon, P. Sudraud, J. C. Milhe, et A. Canbas, « Recherches technologiques sur les composés phénoliques des vins rouges », *Conn Vigne Vin*, vol. 4, p. 133–144, 1970.
[204] A. Blainski, G. C. Lopes, et J. C. P. De Mello, « Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from Limonium brasiliense L. », *Molecules*, vol. 18, nº 6, p. 6852–6865, 2013.
[205] B. Okmen, H. O. Sigva, S. Mutlu, S. Doganlar, A. Yemenicioglu, et A. Frary, « Total antioxidant activity and total phenolic contents in different Turkish eggplant (Solanum melongena L.) cultivars », *Int. J. Food Prop.*, vol. 12, nº 3, p. 616–624, 2009.
[206] I. Ignat, I. Volf, et V. I. Popa, « A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables », *Food Chem.*, vol. 126, nº 4, p. 1821–1835, 2011.
[207] A. M. Gómez-Caravaca, M. Gómez-Romero, D. Arráez-Román, A. Segura-Carretero, et A. Fernández-Gutiérrez, « Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees », *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 41, nº 4, p. 1220–1234, 2006.
[208] L. R. Snyder, J. J. Kirkland, et J. W. Dolan, *Introduction to modern liquid chromatography*. John Wiley & Sons, 2011.
[209] J. Wollgast et E. Anklam, « Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification », *Food Res. Int.*, vol. 33, nº 6, p. 423–447, 2000.
[210] K. R. Markham et S. J. Bloor, « Analysis and identification of flavonoids in practice », 1998.
[211] M. W. Dong, *Modern HPLC for practicing scientists*. John Wiley & Sons, 2006.
[212] M. Naczk et F. Shahidi, « Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis », *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 41, nº 5, p. 1523–1542, 2006.
[213] N. Kacjan Maršić, M. Mikulič-Petkovšek, et F. Štampar, « Grafting influences phenolic profile and carpometric traits of fruits of greenhouse-grown eggplant (Solanum melongena L.) », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 62, nº 43, p. 10504–10514, 2014.
[214] M. Winter et K. Herrmann, « Esters and glucosides of hydroxycinnamic acids in vegetables », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 34, nº 4, p. 616–620, 1986.
[215] A. P. Singh *et al.*, « Polyphenols content and antioxidant capacity of eggplant pulp », *Food Chem.*, vol. 114, nº 3, p. 955–961, 2009.

[216] N. Nenadis et M. Tsimidou, « Observations on the estimation of scavenging activity of phenolic compounds using rapid 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) tests », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 79, nº 12, p. 1191, 2002.
[217] J. Pérez-Jiménez *et al.*, « Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results », *Food Res. Int.*, vol. 41, nº 3, p. 274–285, 2008.
[218] O. P. Sharma et T. K. Bhat, « DPPH antioxidant assay revisited », *Food Chem.*, vol. 113, nº 4, p. 1202–1205, 2009.
[219] S. Vladimir-Knežević, B. Blažeković, M. B. Štefan, et M. Babac, « Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health », in *Phytochemicals as Nutraceuticals-Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*, InTech, 2012.
[220] D. M. Vučić, M. R. Petković, B. B. Rodić-Grabovac, O. D. Stefanović, S. M. Vasić, et L. R. Čomić, « Antibacterial and antioxidant activities of bilberry (Vaccinium myrtillus L.) in vitro », *Afr. J. Microbiol. Res.*, vol. 7, nº 45, p. 5130–5136, 2013.
[221] E.-J. Jung, M.-S. Bae, E.-K. Jo, Y.-H. Jo, et S.-C. Lee, « Antioxidant activity of different parts of eggplant », *J. Med. Plants Res.*, vol. 5, nº 18, p. 4610–4615, 2011.
[222] L. Boulekbache-Makhlouf, L. Medouni, S. Medouni-Adrar, L. Arkoub, et K. Madani, « Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant », *Ind. Crops Prod.*, vol. 49, p. 668–674, 2013.
[223] S. Meziane, H. Kadi, K. Daoud, et F. Hannane, « Application of experimental design method to the oil extraction from olive cake », *J. Food Process. Preserv.*, vol. 33, nº 2, p. 176–185, 2009.
[224] A. Lama-Muñoz, P. Álvarez-Mateos, G. Rodríguez-Gutiérrez, M. M. Durán-Barrantes, et J. Fernández-Bolaños, « Biodiesel production from olive–pomace oil of steam-treated alperujo », *Biomass Bioenergy*, vol. 67, p. 443–450, 2014.
[225] M. Canakci et J. Van Gerpen, « Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids », *Trans. ASAE*, vol. 44, nº 6, p. 1429, 2001.
[226] K. Somnuk, P. Smithmaitrie, et G. Prateepchaikul, « Two-stage continuous process of methyl ester from high free fatty acid mixed crude palm oil using static mixer coupled with high-intensity of ultrasound », *Energy Convers. Manag.*, vol. 75, p. 302–310, 2013.
[227] P. Nautiyal, K. A. Subramanian, et M. G. Dastidar, « Production and characterization of biodiesel from algae », *Fuel Process. Technol.*, vol. 120, p. 79–88, 2014.
[228] E. A. Ehimen, Z. F. Sun, et C. G. Carrington, « Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids », *Fuel*, vol. 89, nº 3, p. 677–684, 2010.
[229] P. Li, X. Miao, R. Li, et J. Zhong, « In situ biodiesel production from fast-growing and high oil content Chlorella pyrenoidosa in rice straw hydrolysate », *BioMed Res. Int.*, vol. 2011, 2011.
[230] C. M. Galanakis, « Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 26, nº 2, p. 68–87, 2012.
[231] N. Mansir *et al.*, « Modified waste egg shell derived bifunctional catalyst for biodiesel production from high FFA waste cooking oil. A review », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 2017.
[232] P. Indhumathi, S. S. PS, et U. S. Shoba, « A Method for production and characterization of biodiesel from green micro algae », *Int. J. Bio-Sci. Bio-Technol.*, vol. 6, nº 5, p. 111–122, 2014.
[233] Y. LIU, H. LU, W. JIANG, D. LI, S. LIU, et B. LIANG, « Biodiesel production from crude Jatropha curcas L. oil with trace acid catalyst », *Chin. J. Chem. Eng.*, vol. 20, nº 4, p. 740–746, 2012.

[234] H. Zhu *et al.*, « Preparation of biodiesel catalyzed by solid super base of calcium oxide and its refining process », *Chin. J. Catal.*, vol. 27, nº 5, p. 391–396, 2006.
[235] W. Yuan, A. C. Hansen, Q. Zhang, et Z. Tan, « Temperature-dependent kinematic viscosity of selected biodiesel fuels and blends with diesel fuel », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 82, nº 3, p. 195–199, 2005.
[236] M. Ahmad *et al.*, « Physicochemical characterization of eco-friendly rice bran oil biodiesel », *Energy Sources Part Recovery Util. Environ. Eff.*, vol. 33, nº 14, p. 1386–1397, 2011.
[237] M. Insausti, C. Romano, M. F. Pistonesi, et B. S. F. Band, « Simultaneous determination of quality parameters in biodiesel/diesel blends using synchronous fluorescence and multivariate analysis », *Microchem. J.*, vol. 108, p. 32–37, 2013.
[238] N. Bezaire, K. Wadumesthrige, K. S. Ng, et S. O. Salley, « Limitations of the use of cetane index for alternative compression ignition engine fuels », *Fuel*, vol. 89, nº 12, p. 3807–3813, 2010.
[239] D. H. Qi, L. M. Geng, H. Chen, Y. Z. Bian, J. Liu, et X. C. Ren, « Combustion and performance evaluation of a diesel engine fueled with biodiesel produced from soybean crude oil », *Renew. Energy*, vol. 34, nº 12, p. 2706–2713, 2009.
[240] P. Ribéreau-Gayon, « Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges », *Chim Anal*, vol. 52, nº 6, p. 627–631, 1970.
[241] A. Todaro, F. Cimino, P. Rapisarda, A. E. Catalano, R. N. Barbagallo, et G. Spagna, « Recovery of anthocyanins from eggplant peel », *Food Chem.*, vol. 114, nº 2, p. 434–439, 2009.
[242] W. Brand-Williams, M.-E. Cuvelier, et C. Berset, « Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity », *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 28, nº 1, p. 25–30, 1995.
[243] M. Koubaa, L. Lepreux, F. J. Barba, H. Mhemdi, et E. Vorobiev, « Gas assisted mechanical expression (GAME) for the selective recovery of lipophilic and hydrophilic compounds from olive kernel », *J. Clean. Prod.*, vol. 166, p. 387–394, 2017.
[244] F. Che, I. Sarantopoulos, T. Tsoutsos, et V. Gekas, « Exploring a promising feedstock for biodiesel production in Mediterranean countries: a study on free fatty acid esterification of olive pomace oil », *Biomass Bioenergy*, vol. 36, p. 427–431, 2012.
[245] M. D. Salvador, F. Aranda, et G. Fregapane, « Influence of fruit ripening on 'Cornicabra'virgin olive oil quality A study of four successive crop seasons », *Food Chem.*, vol. 73, nº 1, p. 45–53, 2001.
[246] A. Charbonnier, *L'huile de olive: aliment, santé, coeur, vaisseaux, os, digestion*. Editions Frison-Roche, 1996.
[247] N. Frega, M. Mozzon, et G. Lercker, « Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 76, nº 3, p. 325–329, 1999.
[248] D. Ballerini, N. Alazard-Toux, et O. Appert, « Les biocarburants(état des lieux, perspectives et enjeux du développement) », *IFP Publ.*, 2006.
[249] D. Boskou, « Olive oil quality », *Olive Oil Chem. Technol.*, p. 101–120, 1996.
[250] D. Frank, *Vegetable oils in food technology, composition, properties and uses. Gunstone*. Blackwell Publishing, CRC Press, CRC Press LLC, 2002.
[251] A. Karleskind, « Manuel des corps gras », 1992.
[252] A. Demirbas, « Relationships derived from physical properties of vegetable oil and biodiesel fuels », *Fuel*, vol. 87, nº 8‑9, p. 1743–1748, 2008.
[253] H. A. Farag, A. El-Maghraby, et N. A. Taha, « Optimization of factors affecting esterification of mixed oil with high percentage of free fatty acid », *Fuel Process. Technol.*, vol. 92, nº 3, p. 507–510, 2011.

[254] L. Chen, T. Liu, W. Zhang, X. Chen, et J. Wang, « Biodiesel production from algae oil high in free fatty acids by two-step catalytic conversion », *Bioresour. Technol.*, vol. 111, p. 208–214, 2012.
[255] M. A. Khan, S. Yusup, et M. M. Ahmad, « Acid esterification of a high free fatty acid crude palm oil and crude rubber seed oil blend: Optimization and parametric analysis », *Biomass Bioenergy*, vol. 34, n° 12, p. 1751–1756, 2010.
[256] I. Ambat, V. Srivastava, et M. Sillanpää, « Recent advancement in biodiesel production methodologies using various feedstock: A review », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 90, p. 356–369, 2018.
[257] T. Dong, J. Wang, C. Miao, Y. Zheng, et S. Chen, « Two-step in situ biodiesel production from microalgae with high free fatty acid content », *Bioresour. Technol.*, vol. 136, p. 8–15, 2013.
[258] S. Özgül-Yücel et S. Türkay, « FA monoalkylesters from rice bran oil by in situ esterification », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 80, n° 1, p. 81–84, 2003.
[259] K. J. Harrington et C. D'Arcy-Evans, « A comparison of conventional and in situ methods of transesterification of seed oil from a series of sunflower cultivars », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 62, n° 6, p. 1009–1013, 1985.
[260] G. Kildiran, S. Ö. Yücel, et S. Türkay, « In-situ alcoholysis of soybean oil », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 73, n° 2, p. 225–228, 1996.
[261] A. I. Carrapiso et C. García, « Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification », *Lipids*, vol. 35, n° 11, p. 1167–1177, 2000.
[262] A. B. Fadhil et H. M. Mohammed, « Co-solvent transesterification of bitter almond oil into biodiesel: optimization of variables and characterization of biodiesel », *Transport*, vol. 33, n° 3, p. 686–698, 2018.
[263] M. J. Haas, K. M. Scott, T. A. Foglia, et W. N. Marmer, « The general applicability of in situ transesterification for the production of fatty acid esters from a variety of feedstocks », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 84, n° 10, p. 963–970, 2007.
[264] A. Suryani, Z. Mubarok, M. Romli, et E. N. Yunira, « Process design of in situ esterification-transesterifica tion for biodiesel production from residual oil of spent bleaching earth (SBE) », in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2017, vol. 65, p. 012040.
[265] C. Haşimoğlu, M. Ciniviz, İ. Özsert, Y. İçingür, A. Parlak, et M. S. Salman, « Performance characteristics of a low heat rejection diesel engine operating with biodiesel », *Renew. Energy*, vol. 33, n° 7, p. 1709–1715, 2008.
[266] I. M. Atadashi, M. K. Aroua, et A. A. Aziz, « High quality biodiesel and its diesel engine application: a review », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 14, n° 7, p. 1999–2008, 2010.
[267] M. Mofijur, A. E. Atabani, H. al Masjuki, M. A. Kalam, et B. M. Masum, « A study on the effects of promising edible and non-edible biodiesel feedstocks on engine performance and emissions production: a comparative evaluation », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 23, p. 391–404, 2013.
[268] P. C. Braga, R. L. Scalzo, M. Dal Sasso, N. Lattuada, V. Greco, et M. Fibiani, « Characterization and antioxidant activity of semi-purified extracts and pure delphinidin-glycosides from eggplant peel (Solanum melongena L.) », *J. Funct. Foods*, vol. 20, p. 411–421, 2016.
[269] A. P. Singh *et al.*, « Polyphenols content and antioxidant capacity of eggplant pulp », *Food Chem.*, vol. 114, n° 3, p. 955–961, 2009.
[270] D. Amendola, D. M. De Faveri, et G. Spigno, « Grape marc phenolics: extraction kinetics, quality and stability of extracts », *J. Food Eng.*, vol. 97, n° 3, p. 384–392, 2010.

[271] B. Bamba, J. Shi, C. Tranchant, S. Xue, C. Forney, et L.-T. Lim, « Influence of Extraction Conditions on Ultrasound-Assisted Recovery of Bioactive Phenolics from Blueberry Pomace and Their Antioxidant Activity », *Molecules*, vol. 23, nº 7, p. 1685, 2018.
[272] S. Hosseini, M. Gharachorloo, B. Ghiassi-Tarzi, et M. Ghavami, « Evaluation of the organic acids ability for extraction of anthocyanins and phenolic compounds from different sources and their degradation kinetics during cold storage », *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, vol. 66, nº 4, p. 261–270, 2016.
[273] F. Chemat, M. A. Vian, et G. Cravotto, « Green extraction of natural products: concept and principles », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 13, nº 7, p. 8615–8627, 2012.
[274] D. B. Goldstein et J. H. Chin, « Interaction of ethanol with biological membranes. », in *Federation proceedings*, 1981, vol. 40, p. 2073–2076.
[275] D. B. Muñiz-Márquez, G. C. Martínez-Ávila, J. E. Wong-Paz, R. Belmares-Cerda, R. Rodríguez-Herrera, et C. N. Aguilar, « Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Laurus nobilis L. and their antioxidant activity », *Ultrason. Sonochem.*, vol. 20, nº 5, p. 1149–1154, 2013.
[276] L. Yang, J.-G. Jiang, W.-F. Li, J. Chen, D.-Y. Wang, et L. Zhu, « Optimum extraction process of polyphenols from the bark of Phyllanthus emblica L. based on the response surface methodology », *J. Sep. Sci.*, vol. 32, nº 9, p. 1437–1444, 2009.
[277] J. E. Cacace et G. Mazza, « Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol », *J. Food Sci.*, vol. 68, nº 1, p. 240–248, 2003.
[278] G. Spigno, L. Tramelli, et D. M. De Faveri, « Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics », *J. Food Eng.*, vol. 81, nº 1, p. 200–208, 2007.
[279] A. Thirunavukkarasu et R. Nithya, « Response surface optimization of critical extraction parameters for anthocyanin from Solanum melongena », *J Bioprocess Biotech*, vol. 1, p. 1–4, 2011.
[280] L. G. d'Alessandro, K. Kriaa, I. Nikov, et K. Dimitrov, « Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry », *Sep. Purif. Technol.*, vol. 93, p. 42–47, 2012.
[281] S. Boonkird, C. Phisalaphong, et M. Phisalaphong, « Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from Capsicum frutescens on a lab-and pilot-plant scale », *Ultrason. Sonochem.*, vol. 15, nº 6, p. 1075–1079, 2008.
[282] D. D. Gertenbach, « Solid-liquid extraction technologies for manufacturing nutraceuticals », *Funct. Foods Biochem. Process. Asp.*, vol. 2, p. 331–366, 2002.
[283] M. S. Guerrero, J. S. Torres, et M. J. Nuñez, « Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: Optimization and modelling », *Bioresour. Technol.*, vol. 99, nº 5, p. 1311–1318, 2008.
[284] R. Poirot, « Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de solute à partir de matière végétale », PhD Thesis, 2007.
[285] F. Dranca et M. Oroian, « Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (Solanum melongena L.) peel », *Ultrason. Sonochem.*, vol. 31, p. 637–646, 2016.
[286] F. Dranca et M. Oroian, « Total Monomeric Anthocyanin, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Extracts from Eggplant (S olanum Melongena L.) Peel Using Ultrasonic Treatments », *J. Food Process Eng.*, vol. 40, nº 1, p. e12312, 2017.
[287] T. Ando *et al.*, « Floral anthocyanins in wild taxa of Petunia (Solanaceae) », *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 27, nº 6, p. 623–650, 1999.
[288] S. Eichhorn et P. Winterhalter, « Anthocyanins from pigmented potato (Solanum tuberosum L.) varieties », *Food Res. Int.*, vol. 38, nº 8‑9, p. 943–948, 2005.
[289] X. Wu et R. L. Prior, « Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography- electrospray ionization- tandem mass spectrometry

in common foods in the United States: Vegetables, nuts, and grains », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, nº 8, p. 3101–3113, 2005.
[290] M. J. Zaro, S. Keunchkarian, A. R. Chaves, A. R. Vicente, et A. Concellón, « Changes in bioactive compounds and response to postharvest storage conditions in purple eggplants as affected by fruit developmental stage », *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 96, p. 110–117, 2014.
[291] Y. Noda, T. Kneyuki, K. Igarashi, A. Mori, et L. Packer, « Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels », *Toxicology*, vol. 148, nº 2‑3, p. 119–123, 2000.
[292] Z. Zhu *et al.*, « HPLC-DAD-ESI-MS2 analytical profile of extracts obtained from purple sweet potato after green ultrasound-assisted extraction », *Food Chem.*, vol. 215, p. 391–400, 2017.
[293] Z. Zhu, T. Jiang, J. He, F. J. Barba, G. Cravotto, et M. Koubaa, « Ultrasound-assisted extraction, centrifugation and ultrafiltration: Multistage process for polyphenol recovery from purple sweet potatoes », *Molecules*, vol. 21, nº 11, p. 1584, 2016.
[294] P. Nisha, P. A. Nazar, et P. Jayamurthy, « A comparative study on antioxidant activities of different varieties of Solanum melongena », *Food Chem. Toxicol.*, vol. 47, nº 10, p. 2640–2644, 2009.
[295] P. Xie, L. Huang, C. Zhang, et Y. Zhang, « Phenolic compositions, and antioxidant performance of olive leaf and fruit (Olea europaea L.) extracts and their structure–activity relationships », *J. Funct. Foods*, vol. 16, p. 460–471, 2015.
[296] W. Bors, W. Heller, C. Michel, et M. Saran, « [36] Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies », in *Methods in enzymology*, vol. 186, Elsevier, 1990, p. 343–355.
[297] B. Zhou, Q. Miao, L. Yang, et Z.-L. Liu, « Antioxidative effects of flavonols and their glycosides against the free-radical-induced peroxidation of linoleic acid in solution and in micelles », *Chem. Eur. J.*, vol. 11, nº 2, p. 680–691, 2005.
[298] L. R. Fukumoto et G. Mazza, « Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48, nº 8, p. 3597–3604, 2000.
[299] M. P. Kähkönen et M. Heinonen, « Antioxidant Activity of Anthocyanins and Their Aglycons », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, nº 3, p. 628‑633, janv. 2003.
[300] M. Koubaa *et al.*, « Recovery of colorants from red prickly pear peels and pulps enhanced by pulsed electric field and ultrasound », *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 37, p. 336–344, 2016.
[301] P. Xie, L. Huang, C. Zhang, F. You, et Y. Zhang, « Reduced pressure extraction of oleuropein from olive leaves (Olea europaea L.) with ultrasound assistance », *Food Bioprod. Process.*, vol. 93, p. 29–38, 2015.
[302] D. Goburdhun, « Evaluation of soybean oil quality during conventional frying by FTIR and some chemical indexes », *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 52, nº 1, p. 31–42, 2001.
[303] M. D. Guillen et N. Cabo, « Characterization of edible oils and lard by Fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 74, nº 10, p. 1281–1286, 1997.
[304] F. Shahidi et U. N. Wanasundara, « Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils », *Food Lipids Chem. Nutr. Biotechnol.*, p. 387–403, 2002.
[305] A. Rohman et Y. C. Man, « Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil », *Food Res. Int.*, vol. 43, nº 3, p. 886–892, 2010.

[306] T. G. Kudre, N. Bhaskar, et P. Z. Sakhare, « Optimization and characterization of biodiesel production from rohu (Labeo rohita) processing waste », *Renew. Energy*, vol. 113, p. 1408–1418, 2017.
[307] A. B. Fadhil et L. H. Ali, « Alkaline-catalyzed transesterification of Silurus triostegus Heckel fish oil: Optimization of transesterification parameters », *Renew. Energy*, vol. 60, p. 481–488, 2013.
[308] M. Tariq *et al.*, « Identification, FT-IR, NMR (1H and 13C) and GC/MS studies of fatty acid methyl esters in biodiesel from rocket seed oil », *Fuel Process. Technol.*, vol. 92, nº 3, p. 336–341, 2011.
[309] J. Kim, D. N. Kim, S. H. Lee, S.-H. Yoo, et S. Lee, « Correlation of fatty acid composition of vegetable oils with rheological behaviour and oil uptake », *Food Chem.*, vol. 118, nº 2, p. 398–402, 2010.
[310] R. A. Candeia *et al.*, « Influence of soybean biodiesel content on basic properties of biodiesel–diesel blends », *Fuel*, vol. 88, nº 4, p. 738–743, 2009.
[311] I. A. Adeoti, K. Hawboldt, et M. R. Santos, « Thermal and flow properties of fish oil blends with bunker fuel oil », *Fuel*, vol. 158, p. 641–649, 2015.
[312] B. L. Pelegrini *et al.*, « Thermal and rheological properties of soapberry Sapindus saponaria L.(Sapindaceae) oil biodiesel and its blends with petrodiesel », *Fuel*, vol. 199, p. 627–640, 2017.
[313] G. Navarra *et al.*, « Thermal oxidative process in extra-virgin olive oils studied by FTIR, rheology and time-resolved luminescence », *Food Chem.*, vol. 126, nº 3, p. 1226–1231, 2011.
[314] J. C. O. Santos, I. M. G. Santos, et A. G. Souza, « Effect of heating and cooling on rheological parameters of edible vegetable oils », *J. Food Eng.*, vol. 67, nº 4, p. 401–405, 2005.
[315] L. L. Forster et L. K. Ferrier, « Viscometric characteristics of whole soybean milk », *J. Food Sci.*, vol. 44, nº 2, p. 583–590, 1979.
[316] R. Kahn, D. Stehli, L. S. Wei, M. P. Steinberg, et N. Yamashita, « Activity and mobility of water in sweetened concentrated desludged soy beverages and their rheological properties », *J. Food Sci.*, vol. 55, nº 2, p. 537–542, 1990.
[317] G. Knothe, « “Designer” biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties », *Energy Fuels*, vol. 22, nº 2, p. 1358–1364, 2008.