



**HAL**  
open science

# Contribution à la valorisation des sous-produits agricoles en bioproduits

Esaie Kouassi

► **To cite this version:**

Esaie Kouassi. Contribution à la valorisation des sous-produits agricoles en bioproduits. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT; Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (Yamoussoukro, Côte d'Ivoire), 2018. Français. NNT: 2018INPT0027. tel-04199527

**HAL Id: tel-04199527**

**<https://theses.hal.science/tel-04199527>**

Submitted on 7 Sep 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Université  
de Toulouse

# THÈSE

En vue de l'obtention du

## DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

**Délivré par :**

Institut National Polytechnique de Toulouse (Toulouse INP)

**Discipline ou spécialité :**

Sciences des Agroressources

---

**Présentée et soutenue par :**

M. ESAIE KOUADIO APPIAH KOUASSI

le vendredi 30 mars 2018

**Titre :**

Contribution à la valorisation des sous-produits agricoles en bioproduits

---

**Ecole doctorale :**

Sciences de la Matière (SDM)

**Unité de recherche :**

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (L.C.A.)

**Directeur(s) de Thèse :**

M. CARLOS VACA GARCIA

M. YAYA SORO

**Rapporteurs :**

M. KARIM ALLAF, UNIVERSITE DE LA ROCHELLE

Mme AKOUA PHILOMENE KOUASSI YAO, UNIVERSITE FELIX-HOUPHOUET-BOIGNY

**Membre(s) du jury :**

M. EMMANUEL NOGBOU ASSIDJO, INPHB-YAMOOUSSOUKRO, Président

M. CARLOS VACA GARCIA, INP TOULOUSE, Membre

Mme AMENAN ROSE KOFFI-NEVRY, UNIVERSITE NANGUI ABROGOUA, Membre

M. YAYA SORO, INPHB-YAMOOUSSOUKRO, Membre

*A Feu mon Père KOUASSI Vincent*

*A mon Père adoptif TANOH Kouassi Justin*

*Et à toi ma fille KOUASSI Amah Marie-Divine.*

## REMERCIEMENTS

Ce sujet a été sélectionné et financé en partie par le projet « d'Appui à la Modernisation et à la Réforme des Universités et Grandes Ecoles de la Côte D'Ivoire » (AMRUGE-CI) élaboré dans le cadre du Contrat de Désendettement et de Développement (C2D). Cette thèse a été menée en cotutelle entre l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) et l'Institut National Polytechnique de Toulouse (INPT) (France). Les travaux ont été réalisés au sein du Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN, UMRI 58) et du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA, UMR 1010 INRA/INP-ENCIASET).

Je tiens à remercier :

- monsieur Nicolas FRELOT, Conseiller de coopération et d'action culturelle près de l'ambassade de France à Abidjan, pour avoir cru à ce projet de thèse, et à ses retombées économiques et environnementales ;
- monsieur Gérard VILAREM actuel directeur du LCA de m'avoir accueilli au sein du laboratoire ;
- monsieur YAO Kouassi Benjamin, Professeur titulaire, Directeur du LAPISEN et de l'Ecole Doctorale polytechnique (EDP) de l'INP-HB de m'avoir accueilli au sein du laboratoire et de l'EDP ;
- monsieur Carlos VACA-GARCIA Professeur HDR à l'INP de Toulouse et monsieur SORO Yaya Maître de Conférences à l'INP-HB Yamoussoukro, pour la confiance qu'ils m'ont accordé et pour m'avoir permis de travailler sur un sujet passionnant ainsi que pour leurs précieux conseils.

Je tiens à exprimer ma gratitude aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer mes travaux de recherche:

- Monsieur ASSIDJO Nogbou Emmanuel, Professeur Titulaire CAMES, à l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (Côte d'ivoire). Président du jury, pour l'honneur qu'il nous fait de présider ce jury avec enthousiasme et bonne humeur ;
- Madame YOA Kouassi A. Philomène, Maître de Conférences CAMES, à l'Université Félix Houphouët-Boigny (Côte d'ivoire) et Monsieur Karim ALLAF Professeur HDR à l'Université de La Rochelle (France), se fut un honneur pour nous de vous avoir eu comme rapporteurs du manuscrit. Merci pour l'intérêt que vous avez montré pour mes travaux, merci pour vos remarques constructives et vos conseils qui m'ont permis d'améliorer la qualité scientifique de ce manuscrit ;

- Madame KOFFI Amenan Rose Epouse NEVRY, Professeur Titulaire CAMES à l'Université Nangui Abrogoua (Côte d'ivoire) qui a accepté de participer à ce jury en qualité d'examinatrice. Merci d'avoir lu et expertisé ce travail de thèse dans un délai. Vos remarques permis m'ont donné une nouvelle façon d'interpréter mon travail.

Je remercie :

- tous les membres du LAPISEN et en particulier les enseignants chercheurs. Merci pour vos critiques, vos conseils et vos soutiens ;
- tous les membres LCA, une équipe chaleureuse avec des membres formidables (Didier Dangla, Antoine Rouilly, Ingrid Pelletier, Vincent, Emmanuelle Dao, Anne Lung, Didier Nicolas, Céline Mathieu, Romain Armengau, Jérôme, Muriel Cerny, Marion...)
- tous mes amis doctorants et stagiaires du LAPISEN et du LCA pour leur soutien
- monsieur N'GUETTIA Feni Francis et son épouse pour leur soutien morale et financier
- monsieur TANOHI Kouamé Jean-Marc et son épouse pour leur soutien morale et financier.

Enfin un grand merci à toutes mes deux familles (biologiques et adoptives) pour leur encouragement et soutien.

Je ne saurais fermer cette liste de remerciements sans penser à la famille ASSIE et à quatre autres personnes qui me sont très chères. Il s'agit de :

- Géraldine GIACINTI pour tout son soutien et ses conseils, sa confiance, cette complicité et son appui sans faille aux moments des découragements et de rires aussi ;
- ASSIE Adjoafoua Edwige qui a su gagner mon cœur et mon amour ;
- ABENAN Darkoha ma mère biologique et ABENAN Biniwa Marguerite ma mère adoptive, pour toutes vos prières et votre amour.

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1:Quelques microorganismes producteurs d'acide citrique .....	10
Tableau 2:Avantages et inconvénients de chaque type de fermentation.....	16
Tableau 3:Exemples d'agromatériaux obtenus par transformation directe de la matière végétale .....	34
Tableau 4:Matériel végétal utilisé et ses appellations locales.....	39
Tableau 5:Le matériel de laboratoire.....	40
Tableau 6:Réactifs et standards.....	41
Tableau 7 : Composition du milieu Sabouraud au chloramphénicol (BIOA-RAD, France) ...	45
Tableau 8:Conditions d'analyse des acides gras en CPG-FID.....	60
Tableau 9: Conditions d'analyse des glycérides en CPG-FID .....	61
Tableau 10: Conditions d'analyse des tocophérols en HPLC .....	64
Tableau 11: Conditions d'analyse des stérols en CPG-FID .....	65
Tableau 12:Matrice d'expériences de Doehlert à deux facteurs et paramètres de référence ...	69
Tableau 13: Teneurs en sucres totaux (g/kg) des déchets de fruits sucrés et production d'acide citrique (g/kg) correspondante en fermentation en milieu solide avec <i>Aspergillus niger</i>	72
Tableau 14:Teneurs en acide citrique (g/kg) et en sucres totaux (g/kg) des déchets amylicés	74
Tableau 15: Concentration des minéraux libérés dans le milieu des fermentations au 6 <sup>ème</sup> jour en (mg/kg).....	78
Tableau 16:Concentration des minéraux libérés dans le milieu des fermentations au 12 <sup>ème</sup> jour en (mg/kg).....	79
Tableau 17: Barycentre de la CAH au 6 <sup>ème</sup> jour de fermentation .....	81
Tableau 18:Barycentre de la CAH au 12 <sup>ème</sup> jour de la fermentation.....	81
Tableau 19:Caractéristique physico-chimique de la bagasse de pomme de cajou.....	84
Tableau 20:Correspondance des grands groupes avec les rapports frontaux.....	88
Tableau 21:Composition en acides gras des lipides de résidus de pomme de cajou .....	90
Tableau 22:Composition du profil glycérique de la bagasse de cajou .....	91

Tableau 23: Valeur des indices de la bagasse de pomme de cajou .....	91
Tableau 24:Composition en carotènes totaux et en tocophérols de la bagasse de pomme de cajou en (mg/100 g d'extrait lipidique).....	92
Tableau 25:Composition en phytostérols et squalène de la bagasse de pomme de cajou (mg/100 g d'extrait lipidique).....	95
Tableau 26:Matrice d'expériences et plan expérimentation .....	109
Tableau 27:Écart-types des différentes réponses .....	109
Tableau 28:Coefficients des équations de régression du test d'immersion .....	110
Tableau 29:Coordonnées des points de désirabilité du test d'immersion .....	111
Tableau 30:Caractéristiques théoriques du couple températures-pression .....	112
Tableau 31:Matrice d'expérience et plan d'expérimentation du test de flexion .....	115
Tableau 32:Coefficients des équations de régression test de flexion.....	115
Tableau 33:Coordonnées des points de désirabilité test de flexion .....	116
Tableau 34:Caractéristiques théorique du couple température / pression .....	116
Tableau 35:Résultats des tests de confirmation du couple température pression .....	118

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Formule développée de l'acide citrique.....	5
<b>Figure 2</b> : Organigramme de l'utilisation de l'acide citrique .....	7
Figure 3 : Synthèse de l'acide citrique du point de vue biochimique et métabolique.....	8
<b>Figure 4</b> : Photographie de quelques <i>Aspergillus</i> :.....	12
<b>Figure 5</b> : Photographie d' <i>Aspergillus niger</i> .....	14
<b>Figure 6</b> : Anacardier en production.....	25
<b>Figure 7</b> : Photographie des différentes variétés de la pomme de cajou .....	25
<b>Figure 8</b> : Production de pommes de cajou dans le monde .....	27
<b>Figure 9</b> : Production ivoirienne de noix de cajou de 2000 à 2015.....	28
<b>Figure 10</b> : Carte de la Côte d'Ivoire présentant les zones de production de pomme cajou ....	28
<b>Figure 11</b> : Origine des polymères biosourcés .....	32
<b>Figure 12</b> : Exemples d'agromatériaux obtenus par quelques techniques traditionnelles .....	35
<b>Figure 13</b> : Photographie du cycle de fermentation de l'acide citrique.....	46
<b>Figure 14</b> : Photographies de pomme de cajou collecté (A) et échantillons de bagasse de pomme de cajou séché (B).....	50
<b>Figure 15</b> : Processus d'échantillonnage de la bagasse pour 100 kg de pommes de fraîches .	51
<b>Figure 16</b> : Principe d'obtention des composés pariétaux .....	57
<b>Figure 17</b> : Ratio de production d'acide citrique sur la quantité de sucres consommée pour les différents substrats sucrés sélectionnés.....	73
<b>Figure 18</b> : Ratio de production d'acide citrique sur la quantité de sucres consommée pour les différents substrats amylacés sélectionnés.....	75
<b>Figure 19</b> : Variation de la concentration en acide citrique durant la fermentation. ....	76
<b>Figure 20</b> Variation du pH durant la fermentation. ....	77
<b>Figure 21</b> : Dendrogramme de la CAH de la fermentation de l'AC 6ème et 12ème jour .....	80
<b>Figure 22</b> : Spectres de transmittance en spectroscopie infrarouge des extraits lipidiques de la bagasse de pomme cajou.....	86

<b>Figure 23</b> : Photographie de la plaque CCM des extraits lipidiques et du solvant. H : hexane ; P pulpe ; R peau rouge et J peau jaune.....	87
<b>Figure 24</b> : Photographie des plaques de HPTLC des extraits de lipidiques et des étalons ....	89
<b>Figure 25</b> : Profils des tocophérols des lipides de la bagasse de cajou .....	93
<b>Figure 26</b> : Chromatogrammes des phytostérols de la bagasse de cajou .....	96
<b>Figure 27</b> : Photographie de MEB de la pulpe de pomme de cajou .....	97
<b>Figure 28</b> : Photographie de MEB de la peau de la pomme de cajou de variété rouge.....	98
<b>Figure 29</b> : :Photographie de MEB de la peau de la pomme de cajou de variété jaune .....	98
<b>Figure 30</b> : Thermogramme de calorimétrie à balayage différentiel (DSC) de bagasse de pomme de cajou .....	101
<b>Figure 31</b> : Thermogramme thermogravimétrique (ATG) de la bagasse de pomme de cajou .....	102
<b>Figure 32</b> : Photographie des plaques de la bagasse de pomme de cajou obtenues par thermopressage : .....	103
<b>Figure 33</b> : Résistance à l'immersion des plaques obtenues par thermopressage .....	105
<b>Figure 34</b> : Variation des dimensions et masses des plaques fabriquées des échantillons,...	106
<b>Figure 35</b> : Graphe de variation de l'épaisseur, la largeur et de la perte de masse après immersion .....	110
<b>Figure 36</b> : Propriétés mécaniques en flexion trois-points à partir des échantillons.....	113
<b>Figure 37</b> : Tests microbiologiques sur les plaques obtenue par thermopressage de la bagasse de la pomme.....	116
<b>Figure 38</b> : Objets réalisés par le meilleur couple température pression obtenue.....	117
<b>Figure 39</b> : Test d'immersion de confirmation.....	118

## TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	I
REMERCIEMENTS .....	II
LISTE DES TABLEAUX.....	IV
LISTE DES FIGURES .....	VI
INTRODUCTION GENERALE.....	1
<b>Première Partie : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>3</b>
Chapitre I : ACIDE CITRIQUE.....	4
I- INTRODUCTION.....	4
II- PRESENTATION DE L'ACIDE CITRIQUE .....	4
II-1 Historique .....	4
II-2 Fiche du produit.....	5
III- APPLICATIONS DE L'ACIDE CITRIQUE .....	5
III-1 Industrie alimentaire.....	5
III-2 Industrie pharmaceutique .....	6
III-3 Autres industries.....	6
IV-SYNTHESE DE L'ACIDE CITRIQUE .....	8
IV-1 Dégradation des sucres.....	8
IV-2 Chainière centrale .....	9
IV-3 Cycle de Krebs .....	9
V- MICROORGANISME PRODUCTEUR D'ACIDE CITRIQUE .....	9
V-1 Genre <i>Aspergillus</i> .....	11
V-2 <i>Aspergillus niger</i> .....	13
VI-BIOPRODUCTION DE L'ACIDE CITRIQUE .....	15
VI-1 Fermentation en milieu liquide (FML) .....	15
V-2 Fermentation en milieu solide (FMS) .....	15

VII-FACTEURS INFLUENÇANT LA PRODUCTION D'ACIDE CITRIQUE .....	17
VII-1 Source de carbone .....	17
VII-2 Oligoéléments, source d'azote et phosphore .....	17
VII-3 Conditions environnementales.....	18
VIII-EXTRACTION DE L'ACIDE CITRIQUE .....	20
Chapitre II: BAGASSE DE POMME DE CAJOU .....	22
I- INTRODUCTION.....	22
II- ANACARDIER.....	24
II-1 Historique et description.....	24
II-2 Fruit et faux fruit de l'anacardier.....	24
II-3 Production de noix de cajou dans le monde .....	26
II-3.1 Marché mondial de noix de cajou .....	26
II-3.2 Dynamique de la production de la noix de cajou.....	27
II-3.3 Potentiel de transformation et de valorisation .....	29
Chapitre III : AGRO-FORMULATION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU .....	30
I- INTRODUCTION.....	30
II- BIOCOMPOSITES .....	31
II-1 Composite .....	31
II-2 Biopolymère .....	31
II-3 Fibres végétales .....	32
III- AGROMATERIAUX .....	33
III-1 Définition et présentation .....	33
III-2 Techniques d'élaboration .....	34
II-2.1 Techniques traditionnelles .....	34
III-2.2 Techniques modernes .....	35
<b>Deuxième Partie : MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>38</b>
Chapitre I: MATERIEL .....	39

I- MATERIEL VEGETAL .....	39
II- SOUCHE BIOLOGIQUE .....	39
III- MATERIEL TECHNIQUE.....	40
Chapitre II : METHODES.....	42
I- ACIDE CITRIQUE .....	42
I-1 Hypothèses, objectifs et originalité.....	42
I-2 Echantillonnage.....	43
I-3 Test de criblage .....	44
I-4 Test de fermentation d'acide citrique .....	44
I-5 Préparation de l'inoculum.....	45
I-6 Dosage des sucres totaux .....	47
I-7 Détermination du potentiel d'hydrogène .....	47
I-8 Dosage de l'acide citrique.....	47
I-9 Dosages des éléments minéraux .....	48
II- CARACTERISATION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU .....	49
II-1 Hypothèses, objectifs et originalité .....	49
II-2 Préparation de l'échantillon.....	50
II-3 Caractérisations physico-chimiques .....	52
II-3.1 Taux d'humidité et matière sèche .....	52
II-3.2 Teneur en cendres .....	53
II-3.3 Détermination du potentiel hydrogène.....	53
II-3.4 Teneur en protéines.....	53
II-3.5 Teneur en pectines .....	55
II-3.6 Teneurs en cellulose, hémicellulose et lignine.....	56
II-3.7 Teneur en lipides spécifiques.....	58
II-4 Analyse des lipides spécifiques .....	58
II-4.1 Analyse spectroscopie infrarouge .....	58

II-4.2 Chromatographie sur couche mince à haute performance .....	59
II-4.3 Profil des acides gras.....	60
II-4.4 Profil des glycérides.....	60
II-4.5 Indice d'acide.....	61
II-4.6 Indice d'iode .....	62
II-4.7 Indice de saponification .....	63
II-4.8 Dosage des carotènes totaux .....	63
II-4.9 Dosage des tocophérols.....	64
II-4.10 Dosage des phytostérols.....	65
II-5 Microscopie électronique à balayage .....	66
III- AGRO-FORMULATION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU .....	67
III-1 Hypothèses, objectifs et originalité .....	67
III-2 Préparation de l'échantillon .....	67
III-3 Analyse calorimétrique à balayage différentiel.....	68
III-4 Analyse thermogravimétrique .....	68
III-5 Thermopressage .....	68
III-6 Test d'immersion.....	69
III-7 Essai de flexion .....	69
III-8 Analyse microbiologique .....	70
<b>Troisième Partie : RESULTATS ET DISCUSSIONS .....</b>	<b>71</b>
Chapitre I : ACIDE CITRIQUE.....	72
I- CRIBLAGE.....	72
I-1 Déchets de fruit sucré.....	72
I-2 Déchets amylacés.....	74
II- PRODUCTION D'ACIDE CITRIQUE.....	75
II-1 Variation de la teneur en acide citrique .....	75
II-2 Variation du potentiel hydrogène du milieu durant la fermentation .....	77

II-3 Variation des teneurs en minéraux pendant la fermentation .....	78
II-3.1 Classification ascendante hiérarchique .....	79
III- CONCLUSION PARTIELLE.....	83
Chapitre II : BAGASSE DE LA POMME DE CAJOU.....	84
I- CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES .....	84
II- FRACTION LIPIDIQUE .....	86
II-1 Spectroscopie infrarouge .....	86
II-2 Chromatographiques sur couche mince.....	87
II-3 Teneur en acides gras .....	90
II-4 Teneur en carotène totaux et tocophérol.....	92
II-5 Teneur en phytostérols et en squalène .....	95
II-6 Identification des cires aux microscopies à balayage (MEB).....	97
III-CONCLUSION PARTIELLE .....	100
Chapitre III : VALORISATION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU EN AGROMATERIAUX.....	101
I- CARACTERITIQUE THERMIQUE DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU ...	101
II-AGROFORMULATION PAR THERMOPRESSAGE.....	103
III-RESISTANCE A L'IMMERSION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU.....	104
IV-RESISTANCE MECANIQUE.....	112
IV-1 propriétés mécaniques.....	112
I-2 Plan d'expérience du test de flexion .....	115
V- RESISTANCE MICROBIOLOGIQUES.....	116
VII-CONFIRMATION .....	118
VIII-CONCLUSION PARTIELLE.....	119
CONCLUSION GENERALE .....	120
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	122

## INTRODUCTION GENERALE

La pollution environnementale, l'un des soucis majeurs de chaque gouvernement, s'est accrue dans les pays en développement où, contrairement aux nations industrialisées, une grande partie des polluants environnementaux est constituée de sous-produits agricoles considérés comme déchets. Cette situation résulte du mode de nutrition des populations, de la performance des systèmes agricoles et, le plus souvent, du manque de valorisation de ses sous-produits.

La Côte d'Ivoire, ayant bâti une partie de son économie sur l'agriculture, est aujourd'hui confrontée à la gestion de ses déchets.

En effet, elle est le premier pays producteur et exportateur de cacao, de noix de cajou et de mangues sur le marché européen, et cultive d'importantes quantités de produits vivriers (ARECA, 2016). Elle génère tout au long de l'année une importante quantité de déchets agricoles, conséquence de sa faible capacité de conservation des produits périssables et/ou de valorisation. Cependant, ces déchets pourraient être une importante source de matières premières pour l'industrie des bioproduits.

Au cours du dernier siècle, les bioproduits ont eu un succès remarquable dans la valorisation des déchets industriels et agricoles et ont permis de résoudre un grand nombre de problèmes de pollutions en Europe et partout dans le monde.

Dans ce travail, il s'agit de rechercher des voies de valorisation de certains déchets de fruits sucrés (papaye, pomme de cajou, mangue, orange, ananas, corossol, mandarine, pastèque et pamplemousse) et d'amylacés (patate douce, pomme de terre, igname et manioc) pour produire des composés et des matériaux à valeur ajoutée. En fonction des caractéristiques des résidus considérés, le choix s'est porté sur la production de l'acide citrique, des lipides originaux et des agromatériaux 100% biosourcés.

L'acide citrique est largement utilisé en alimentation (70%) et en pharmacie (12%) (Ates *et al.*, 2002; Dhillon *et al.*, 2013) et les quantités mondiales ne cessent d'augmenter (Nadeem, 2014). Il occupe actuellement la deuxième place des acides organiques sur le marché mondial et les sources de substrats pour le produire sont à explorer.

Les huiles végétales sont généralement produites de graines ou de noyaux de fruits de plantes. Les acides gras de leurs triglycérides jouent un rôle important dans l'alimentation et la cosmétique. La production africaine des huiles végétales, essentiellement fournie par le palmier

à huile, le coton, l'arachide et le maïs, ne remplit plus les besoins des populations qui ne cessent de croître (Ngakegni, 2012). La recherche de nouvelles sources d'huiles à partir de substrats non valorisés s'avère donc une nécessité.

Les agromatériaux constituent une alternative aux matériaux issus de la pétrochimie et connaissent un succès remarquable. Ils sont généralement issus de cultures lignocellulosiques (Ramamoorthy *et al.*, 2015) et nécessitent une valorisation post-production par des procédés mécaniques et/ou chimiques. La transformation des déchets agricoles en agromatériaux est une thématique d'actualité.

La première partie de ce manuscrit est consacrée à la revue bibliographique sur l'acide citrique, la pomme de cajou et les agromatériaux. La deuxième partie présente le matériel et les méthodes utilisés. La troisième partie expose les résultats obtenus suivis de leur discussion.

**Première Partie**

**REVUE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre I : ACIDE CITRIQUE**

### **I- INTRODUCTION**

L'acide citrique (AC) est un acide organique très important en industrie alimentaire et pharmaceutique. Il a été mondialement reconnu comme « GRAS » (*Generally Recognized As Safe*) par une commission mixte FAO/OMS d'experts en additifs alimentaires (Soccol *et al.*, 2006) . Il est utilisé à 70% dans l'alimentation, 12% dans l'industrie pharmaceutique et 18% dans les autres secteurs. En raison de ses nombreuses applications, la demande et la production ne cessent d'être augmentées. La production mondiale de l'acide citrique était de 500 000 tonnes en 1992 (Mattey, 1992), elle est passée à 1,8 million de tonnes en 2011 (Nadeem *et al.*, 2014). Au regard de cette demande toujours croissante, il existe une opportunité pour la recherche de substrats peu coûteux et écologiquement intéressants pour la production de l'acide citrique.

Ce chapitre présente l'acide citrique, ses applications, les microorganismes producteurs d'acide citrique, les techniques de bioproduction et les facteurs influençant la production d'acide citrique.

### **II- PRESENTATION DE L'ACIDE CITRIQUE**

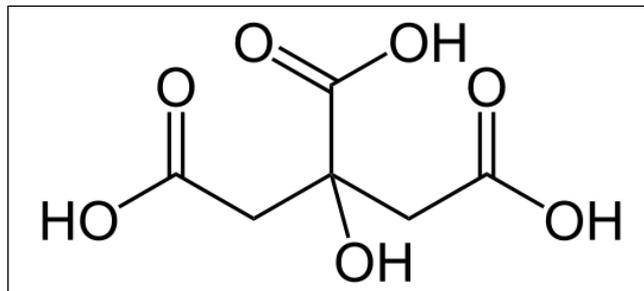
#### **II-1 Historique**

L'acide citrique a été découvert par l'alchimiste Jabir Ibn Hayyan au (VIIIe siècle) (Kertes *et al.*, 2009) et fut ensuite isolé, sous forme cristalline à partir du jus de citron, en 1784, par le chimiste suédois Carl Willhem Scheele (Kertes *et al.*, 2009). Sa structure a été établie par Liebig en 1838 (Moretti et Filippone, 1996). En 1893, Carl Wehmer a découvert quelques micromycètes capables de produire de l'acide citrique par fermentation de substrats contenant du sucre (Kristiansen *et al.*, 2002 ;Papagianni, 2007). En 1916, Alphonse Cappuyns, et en 1917 James Currie, aux Etats-Unis, ont commencé à étudier la production d'acide citrique par voie biologique en employant la moisissure *Aspergillus niger* (Berovic et Legisa, 2007). La production industrielle a débuté en 1927 chez Pfizer puis en 1929 chez Alphonse Cappuyns, (Kristiansen *et al.*, 2002). À cette époque le procédé industriel par fermentation, a commencé à se développer en Europe et aux États-Unis (Moretti et Filippone, 1996). Les cultures d'*Aspergillus niger* sont effectuées dans un milieu contenant du saccharose ou du glucose issu du traitement de mélasse ou de l'amidon. De nos jours,

l'acide citrique est obtenu par différentes techniques de fermentation, dont la fermentation en aérobie (Moretti et Filippone, 1996).

## II-2 Fiche du produit

L'acide citrique ( $C_6H_8O_7$ ) (Figure 1) est un acide tricarboxylique (acide 2-hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylique). Il se présente sous forme de cristaux incolores, inodores, et d'une saveur excessivement aigre. Il est vendu anhydre ( $M = 192,13$  g/mol) ou monohydraté ( $M = 210,14$  g/mol). Son numéro CAS (Chemical Abstract Service) est : 77-92-9 pour la forme anhydre et de 5949-29-1 pour la forme monohydraté mais les deux formes ont le même numéro EINECS (European Inventory of Existing Commercial Substances) 20 106 991. L'acide citrique est un acide faible qui possède trois  $pK_a$  à  $20^\circ C$  ( $pK_1 = 3,15$ ,  $pK_2 = 4,77$ , et  $pK_3 = 6,39$ ) résultant d'une action tampon à pH variant entre 2,5 et 6,5.



**Figure 1 :** Formule développée de l'acide citrique  
Source : [http://www.wikiwand.com/fr/Acide\\_citrique](http://www.wikiwand.com/fr/Acide_citrique)

## III- APPLICATIONS DE L'ACIDE CITRIQUE

La forte demande en acide citrique chaque année pourrait s'expliquer par son utilisation très répandue. Les principales applications sont les industries alimentaire, pharmaceutique, cosmétologique et d'autres industries telles que les mines et l'agriculture. Les systèmes en « batch » ou « fed batch » sont fréquemment utilisés.

### III-1 Industrie alimentaire

L'acide citrique trouve plusieurs applications dans le monde de l'alimentation. En effet, dans les boissons, il fournit l'acidité et complète la saveur des fruits. Il augmente la protection antimicrobienne et est utilisé pour l'ajustement du potentiel d'hydrogène (pH) (Kubicek *et al.*, 1985; Porto de Souza, 2000) et joue le rôle d'acidifiant pour les confitures, les conserves et les confiseries. Dans les fruits surgelés, l'acide citrique diminue le pH pour inactiver les enzymes oxydantes (Porto de Souza, 2000) et protège l'acide ascorbique. Pour les graisses et les huiles,

c'est un agent antioxydant (Kristiansen *et al.*, 2002). Dans les produits laitiers, il est utilisé comme émulsifiant ou encore comme agent acidifiant. Ces dernières années, de nouvelles applications dans le domaine alimentaire ont vu le jour grâce à la recherche scientifique. L'acide citrique présente des effets bactéricides et bactériostatiques contre *Listeria monocytogenes*, un pathogène d'origine alimentaire capable de croître à des températures basses et en présence de concentrations salines élevées (Bal'a et Marshall, 1998).

### **III-2 Industrie pharmaceutique**

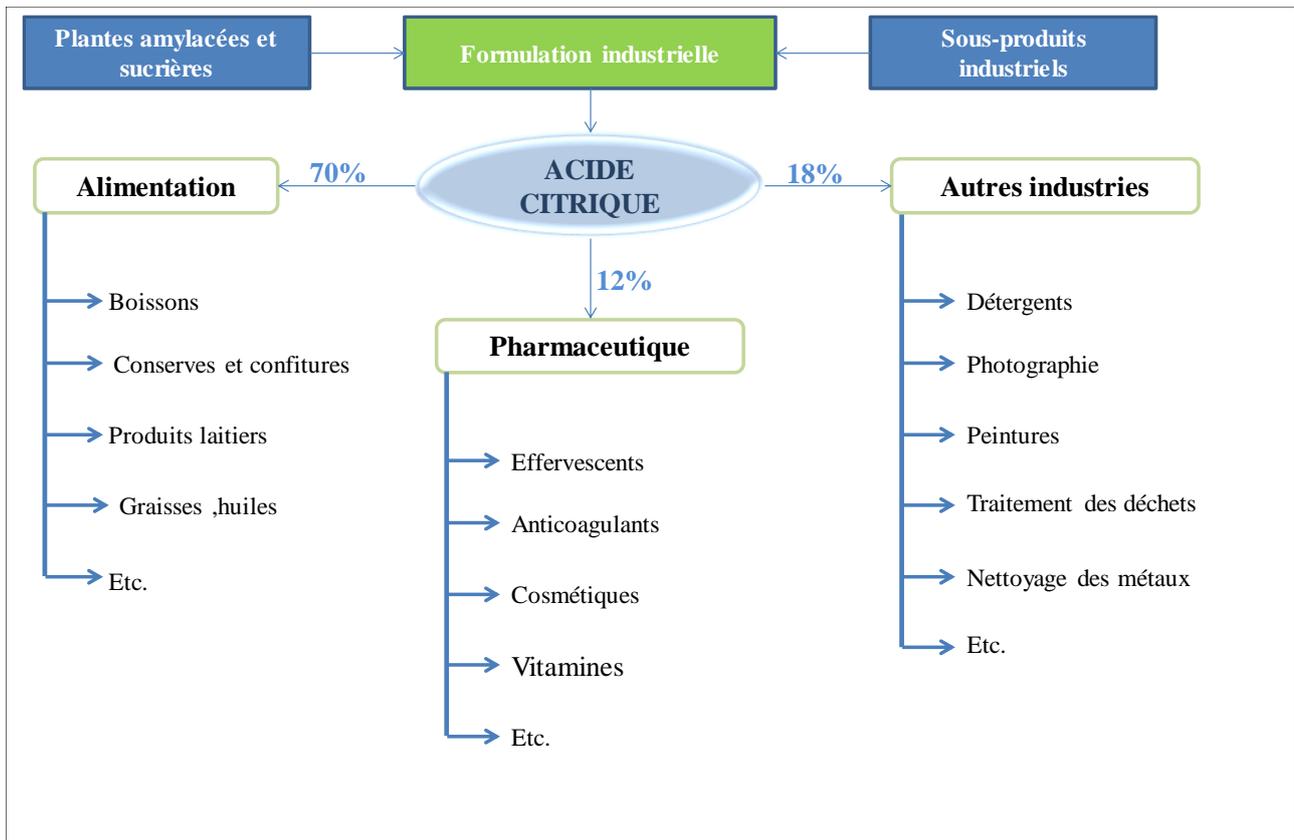
L'application de l'acide citrique dans l'industrie pharmaceutique se rapporte aux vitamines, aux produits effervescents et anticoagulants. Il permet la dissolution rapide des ingrédients actifs (Porto de Souza, 2000). Au niveau cosmétique, il intervient dans l'ajustement du pH et comme agent tampon et antioxydant. Par ailleurs, dans l'industrie pharmaceutique, des applications en nanomédecine ont fait l'objet de plusieurs études, l'utilisation prometteuse d'acide citrique comme copolymère dans les nanomatériaux (Dhillon, 2012; Naeini *et al.*, 2010). Une étude réalisée par (Naeini *et al.*, 2010) a montré l'utilisation potentielle d'acide citrique dans la synthèse des macromolécules dendritiques linéaires de poly(citric acid)-block-poly(éthylène glycol) copolymers. Ces derniers sont utilisés dans les médicaments, car ils se dégradent de nouveau en molécules individuelles qui peuvent être métabolisées par le corps. De nombreux chercheurs ont étudié des échafaudages fabriqués à partir de polyesters élastiques, en particulier à partir du poly(octanediol citrate) (POC) ou en poly(glycérol sébacate) (PGS), compatibles pour la régénération de différents tissus, tels que les vaisseaux sanguins (Gao *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2005), les cartilages (Kang *et al.*, 2006), le tissu osseux (Qiu *et al.*, 2006) et nerveux (Sundback *et al.*, 2005). Une autre étude a mis au point un nanopolymère à base d'acide citrique destiné à être utilisé comme échafaudage biocompatible, qui peut être utilisé pour la culture d'une variété de cellules, comme les cellules endothéliales, les tissus ligamentaires, les cellules musculaires, les cellules osseuses, les cellules cartilagineuses et l'administration de médicaments (Dhillon, 2012).

### **III-3 Autres industries**

Diverses utilisations de l'acide citrique et de ses sels ont été rapportées dans la photographie comme composant des émulsions de plaque d'impression dans divers agents de blanchiment. L'acide citrique est très utilisé dans l'industrie textile (Kristiansen *et al.*, 2002)

dans les industries du tabac, et du papier (Berovic et Legisa, 2007) ainsi que dans le traitement du minerai de fer de qualité inférieure. L'acide citrique contribue à résoudre le problème de la rareté de cette précieuse ressource non renouvelable (le fer) et pourrait être utilisé pour la lixiviation chimique des impuretés des minerais naturels pour extraire les métaux d'intérêt (Peter, 2010). Il existe plusieurs autres applications de l'AC dans des secteurs tels que l'agriculture et les polymères, les composantes de lavage de bouteilles, le ciment, le textile, le traitement des résidus, les adhésifs. D'ailleurs, Williams et Cloete en 2010 ont démontré la possibilité d'utiliser l'AC pour l'élimination du potassium du concentré de minerai de fer de qualité inférieure.

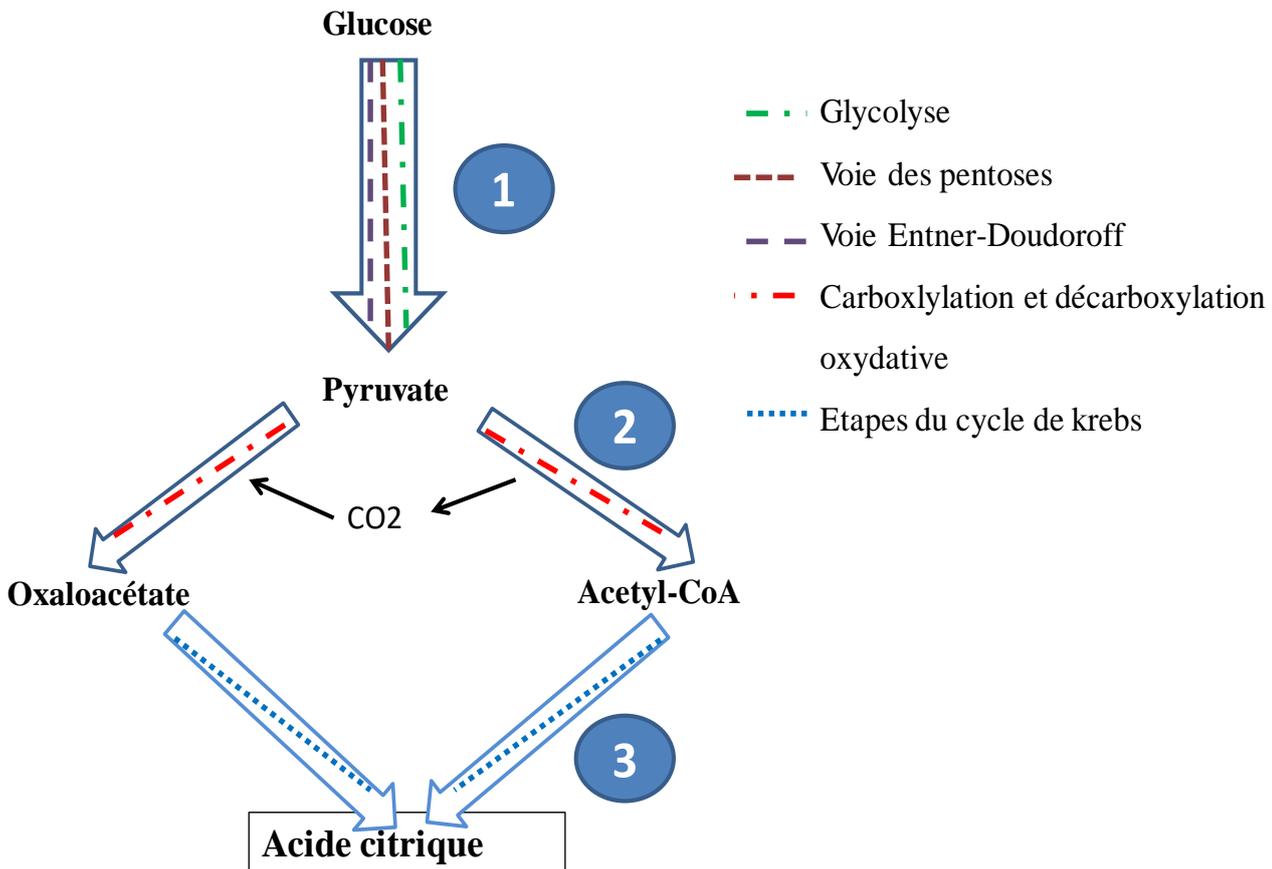
L'organigramme de la Figure 2 présente l'obtention et les différentes applications de l'acide citrique.



**Figure 2:** Organigramme de l'utilisation de l'acide citrique  
 Source : Dhillon, 2012 modifiée

## IV- SYNTHÈSE DE L'ACIDE CITRIQUE

La synthèse de l'acide citrique peut être divisée en trois grandes étapes du point de vue biochimique et métabolique (Morgant, 1988) (Figure 3).



**Figure 3 :** Synthèse de l'acide citrique du point de vue biochimique et métabolique

Source : Morgant, 1988 modifiée

### IV-1 Dégradation des sucres

Trois voies principales de dégradation des sucres sont possibles pour obtenir l'acide pyruvique : la glycolyse, la voie de pentoses et la voie de Entner-Doudoroff.

La glycolyse encore appelée voie d'Emben-Meyeroff-Parnas (Hervé *et al.*, 2008; Latruffe *et al.*, 2014) permet la dégradation du glucose avec production d'adénosine triphosphate ATP et de pyruvate. Ce dernier sera utilisé dans la chaîne de synthèse de l'acide citrique.

Des études menées par Legiša et Matthey en 1988 ont montré que, pendant les premières heures suivant la germination des spores de l'*Aspergillus niger*, environ 80% du métabolisme du

glucose passe par la voie de pentoses. Ce métabolisme tient au fait que le mécanisme permet d'obtenir des précurseurs pour la synthèse d'acides aminés aromatiques et de vitamines (Porto de Souza, 2000).

La voie de Entner-Doudoroff permet d'obtenir l'acide gluconique, un des principaux métabolites annexes produits lors de la fermentation (Porto de Souza, 2000).

#### **IV-2 Chainière centrale**

La chainière centrale est le siège de la décarboxylation/oxydation du pyruvate et de sa carboxylation. A partir d'une molécule de glucose sont formées deux molécules de pyruvate. La première est décarboxylée afin de produire de l'acétyl-CoA et la seconde est carboxylée en d'oxaloacétate. Ainsi l'acétyl-CoA et l'oxaloacétate interviennent dans le cycle de Krebs.

#### **IV-3 Cycle de Krebs**

Aussi appelé cycle du citrate ou cycle de l'acide citrique, le cycle de Krebs comporte huit réactions décrites par Hans Krebs en 1940, montrant qu'il s'agit d'un cycle se déroulant dans le cytosol. Il est constitué de deux grandes étapes enzymatiques à savoir la réaction d'oxydation de l'acétyl-coA et la réaction de régénération de l'oxaloacétate.

Il y a beaucoup de théories proposées pour expliquer les phénomènes de l'accumulation d'acide citrique par *A. niger* (Berovic et Legisa, 2007), mais jusqu'ici aucune explication complète ne fait l'unanimité. La biosynthèse de cet acide organique est controversée par plusieurs auteurs (Kubicek, 1987; Müller, 1975; Strasser *et al.*, 1994).

### **V- MICROORGANISME PRODUCTEUR D'ACIDE CITRIQUE**

Dans l'histoire de la fermentation de l'acide citrique, un grand nombre de microorganismes (bactéries, champignons et levures) ont été rapportées. Ce sont : *Penicillium luteum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium restrictum*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium citrinum*, *Mucor piriformis*, *Trichoderma viride* et *Sacharomycopsis lipolytica* .

Avec les progrès de la biotechnologie, de nouvelles souches génétiquement modifiées et l'amélioration de souches existantes par mutagenèse et par sélection de souches sont utilisées pour des productions industrielles. Cependant, l'utilisation effective de ces nouvelles souches présente des insuffisances. Il existe plusieurs contraintes dans la production de l'acide citrique.

L'utilisation des bactéries et de la levure s'avèrent d'une grande importance (Soccol *et al.*, 2006). Parmi les levures, *Yarrowia lipolytica* a été largement utilisée pour sa capacité à produire de grandes quantités d'acide citrique. Mais la fermentation avec cette levure produit des quantités importantes d'acide iso-citrique (AIC), un sous-produit indésirable (Angumeenal et Venkappayya, 2013; Dhillon, 2012).

Dans la littérature, la plupart des études mentionnent l'utilisation de souches de *Aspergillus niger* en tant que microorganismes les plus favorables pour la production d'acide citrique. Les principaux avantages sont sa facilité de récolte et de manipulation, sa capacité à fermenter diverses matières premières, dont les déchets agricoles et les rendements de production élevés (Anastassiadis *et al.*, 2008; Kubicek *et al.*, 1985). Le Tableau 1 présente quelques microorganismes producteurs d'acide citrique.

Tableau 1: Quelques microorganismes producteurs d'acide citrique

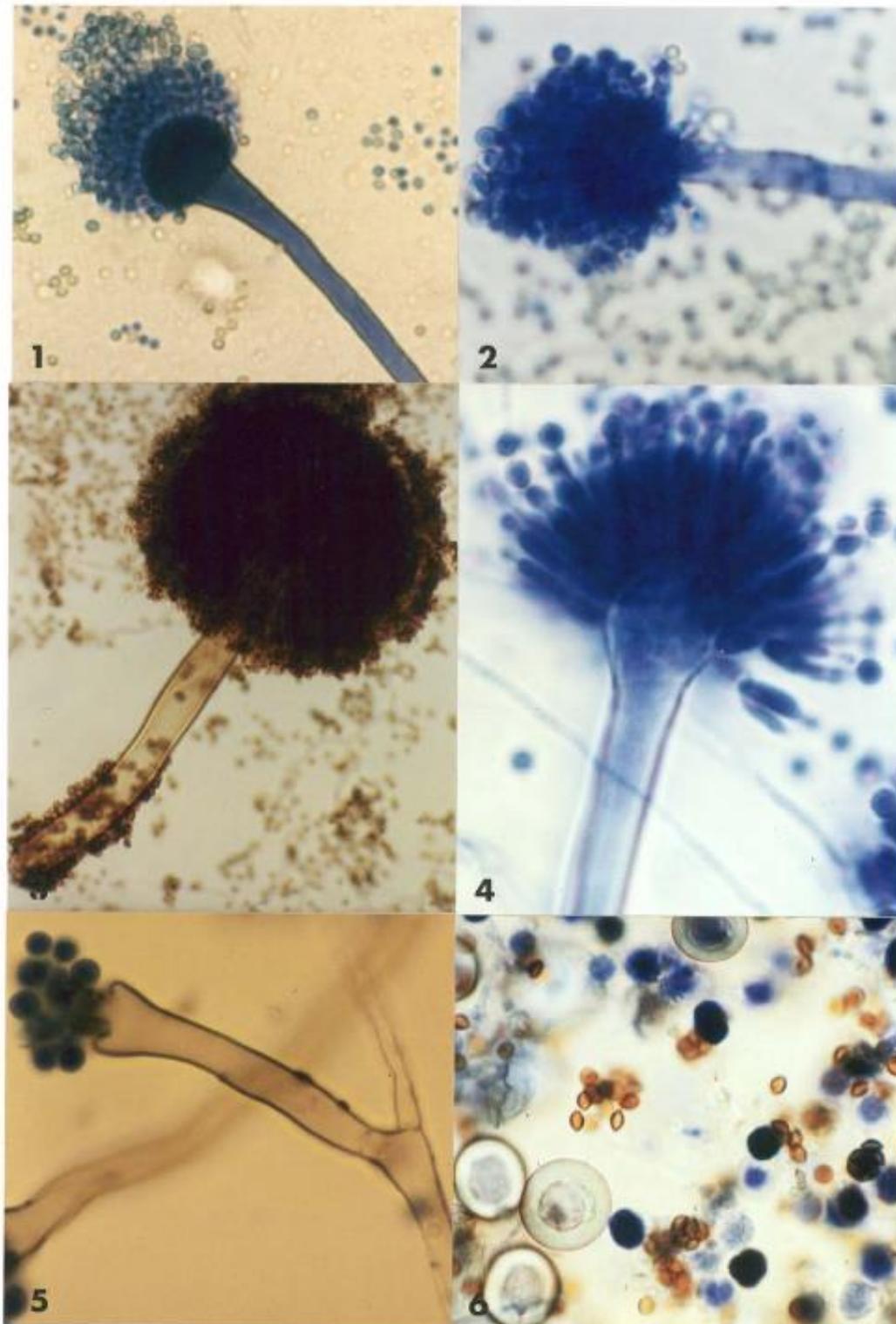
<b>Microorganismes</b>	<b>Références</b>
<b>Champignons</b>	
<i>Aspergillus niger</i>	Show <i>et al.</i> , 2015; Kareem <i>et al.</i> , 2010; Bezalwar <i>et al.</i> , 2013
<i>A. acuelatus</i>	Morgant, 1988
<i>A. awamori</i>	Grewal et Kalra, 1995
<i>A. carbonarius</i>	Kristiansen <i>et al.</i> , 2002
<i>A. wenti</i>	Karow et Waksman, 1947
<i>A. foetidus</i>	Tran <i>et al.</i> , 1998
<i>Penicillium janthinelum</i>	Grewal et kalra, 1995
<b>Levures</b>	
<i>Saccharomicopsis lipolytica</i>	Kristiansen <i>et al.</i> , 2002; Crolla et Kennedy, 2004
<i>Candida tropicalis</i>	Max <i>et al.</i> , 2010
<i>C. oleophila</i>	Max <i>et al.</i> , 2010
<i>C. guilliermondii</i>	West, 2013
<i>C. parapsilosis</i>	Max <i>et al.</i> , 2010; West, 2013
<i>C. citroformans</i>	Kavanagh, 2017
<i>Hansenula anamola</i>	Grewal et Kalra, 1995
<b>Bactéries</b>	
<i>Bacillus licheniformis</i>	Kristiansen <i>et al.</i> , 2002
<i>Arthrobacter paraffinens</i>	Angumeenal et Venkappayya, 2013; Anastassiadis <i>et al.</i> , 2008)
<i>Corynebacterium sp.</i>	Porto de Souza, 2000

### V-1 Genre *Aspergillus*

Les champignons du genre *Aspergillus* ont été décrits pour la première fois en 1729 (Chabasse *et al.*, 2002; Quatresous, 2011). Ce sont des champignons saprophytes, c'est-à-dire, qui tirent leur nourriture de substances organiques en décomposition. Ce sont des moisissures à filaments hyalins, cloisonnés, et ils sont haploïdes (Quatresous, 2011). Le genre *Aspergillus* comprend aujourd'hui 185 espèces, dont une vingtaine est retrouvée en pathologie humaine. Ces champignons ont un métabolisme aérobie. De plus, ils participent au recyclage du carbone et de l'azote de l'environnement. Ils sont thermophiles (certaines espèces peuvent survivre à des températures proches de 70°C) et ne requièrent pas de nutriments spécifiques (Quatresous, 2011). Dans l'environnement, les *Aspergillus* sont sous la forme de champignons filamenteux septes et ramifiés (mycélium). En condition de sevrage ou d'autres stress, des structures spécialisées se développent à partir du mycélium (Berovic et Legisa, 2007; Tabuc, 2007).

Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose au malt, Sabouraud, Potato Dextrose Agar (PDA) additionnés d'antibiotiques (Tabuc, 2007). Après 48 heures d'incubation, l'on observe des colonies plates, formées de courts filaments aériens et blancs. Après 96 heures d'incubation, les colonies vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces (figure 4). La majorité des *Aspergillus* poussent entre 22 et 25°C mais les espèces thermophiles (*A. fumigatus*) se développent entre 37 et 40°C et parfois jusqu'à 57°C.

Les *Aspergillus* forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuses. La couleur des colonies permet une orientation rapide dans l'identification d'espèces : gris-vert pour *A. fumigatus*, vert-jaune pour *A. flavus* et les espèces du groupe *A. glaucus*, vert foncé à chamois pour *A. nidulans*, brun cannelle pour *A. terreus*, chamois clair, jaune et rose pour *A. versicolor*, jaune puis noir pour *A. niger* et blanc pour *A. candidus*. Le revers de la colonie est incolore ou jaune, mais il peut brunir ou rougir avec l'âge (Tabuc, 2007).

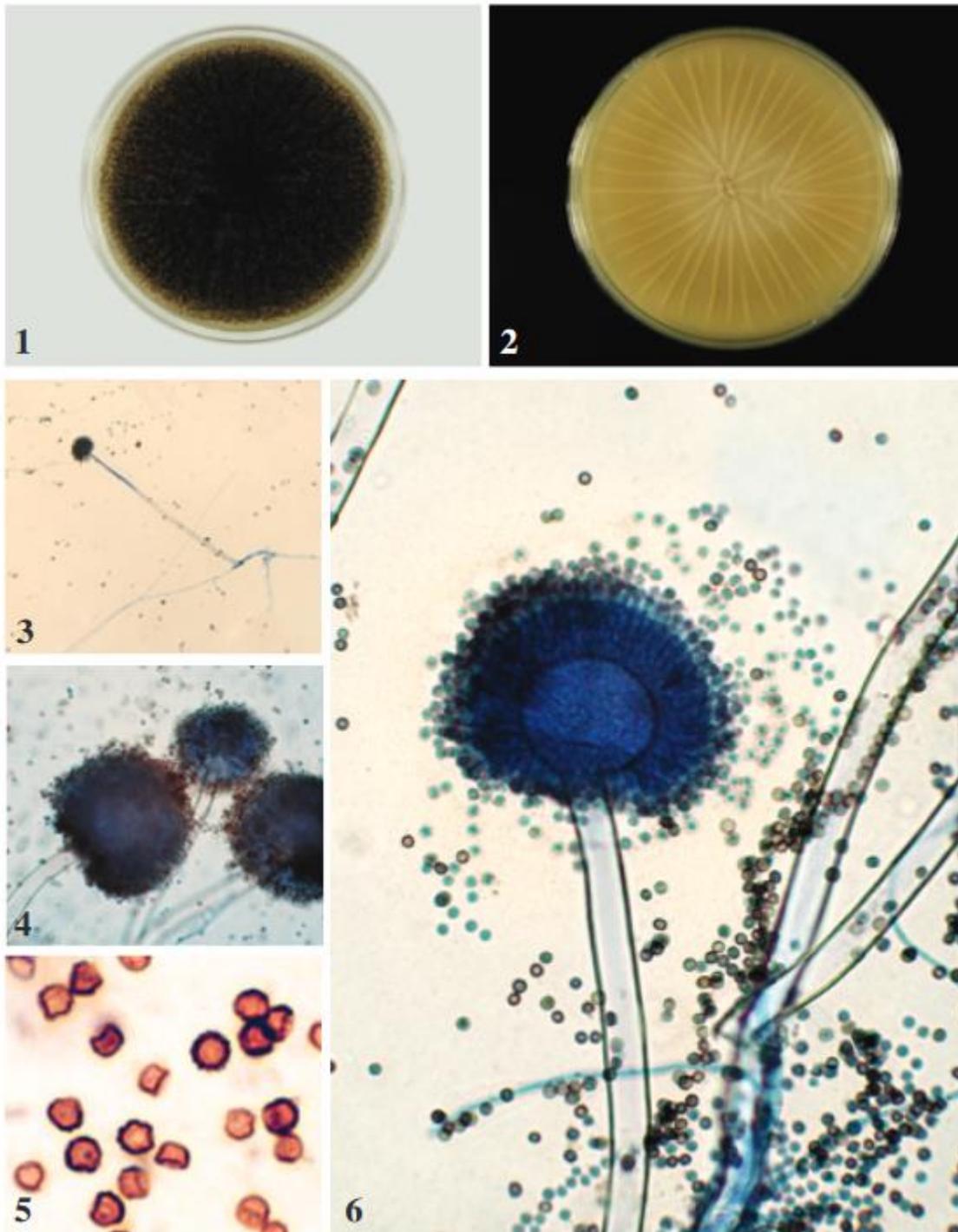


**Figure 4 :** Photographie de quelques *Aspergillus* : (1)-*Aspergillus fumigatus* (800), (2)-*Aspergillus flavus* (x1600), (3)- *Aspergillus niger* (x400) (4)-*Aspergillus versicolor* (x 4000) (5)- *Aspergillus nidulans* (x 4000) (6)-*Emercicella nidulans* (x 4000)

Source : Chabasse et al., 2002

## V- 2 *Aspergillus niger*

*Food and Drug Administration* (FDA) a classé *Aspergillus niger* comme source de production d'acide citrique (Schuster *et al.*, 2002). C'est un champignon filamenteux qui se développe en aérobiose sur la matière organique. Dans la nature, on le trouve dans le sol, le compost et le matériel végétal en décomposition. Il est capable de croître dans la plage de température de 6 à 47°C avec un optimum de 35 à 37°C (Schuster *et al.*, 2002). Il peut pousser sur une très large gamme de pH : 1,4–9,8. Ses capacités et l'abondante production de conidies, qui sont distribuées par l'intermédiaire de l'air, garantissent l'omniprésence de l'espèce, avec une fréquence plus élevée dans les lieux chauds et humides (Schuster *et al.*, 2002). Ce champignon croît facilement sur le milieu de Czapek, sur la gélose dextrosée à la pomme de terre (Potato Dextrose Agar en abrégé PDA), ou sur milieu gélosé de Sabouraud (Chabasse *et al.*, 2002; Quatresous, 2011; Tabuc, 2007). Une colonie peut atteindre 3 à 4 cm en 10 jours, le mycélium extensif hyalin en grande partie immergé dans la gélose. Les colonies apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires (figure 5). En effet, ce champignon produit également du mycélium aérien blanc et de très nombreuses structures sporifères érigées, pulvérulentes, brunes-noires, qui sont généralement disposées en cercles concentriques. Le verso est incolore à jaune. Un exsudat jaune pâle peut être produit en toutes petites gouttelettes (Tabuc, 2007). Il n'y a pas de reproduction sexuée connue. On observe alors des têtes conidiennes larges, brunes rougeâtre sombre à noires, tout d'abord sphériques et secondairement radiées. Elles sont portées par de longs conidiophores (1,5 à 3 mm de long) qui présentent une paroi épaisse, lisse et incolore (Tabuc, 2007). La vésicule est globuleuse, brune, et de grande taille (40 à 70 µm de diamètre). Les phialides, très serrées, sont insérées sur la vésicule par l'intermédiaire de métules disposées sur tout le pourtour de la vésicule. Les métules et les phialides sont légèrement teintées de brun. Les conidies sont produites en très longues chaînes qui, au fil du temps, ont tendance à se regrouper en plusieurs colonnes compactes. Elles sont typiquement globuleuses, brunes, échinulées à très verruqueuses, et mesurent 3,5 à 5 µm de diamètre. La pigmentation n'est pas répartie de façon uniforme sur toute la surface de la conidie, mais correspond à des granulations ornementales regroupées en crêtes irrégulièrement distribuées. La tête aspergillaire est donc bisériée radiée, et noire à maturité (Chabasse *et al.*, 2002; Quatresous, 2011).



**Figure 5 : Photographie d'Aspergillus niger**

*Culture sur gélose de Sabouraud âgée de 8 jours (1 et 2). Têtes aspergillaires observées sous l'objectif 4 (3), 20 (4) et 40 (6). Notez la longueur du conidiophore et l'aspect radié des têtes aspergillaires noires à maturité. 5, détail des spores (objectif 100).*

Source : Chabasse *et al.*, 2002

## **VI- BIOPRODUCTION DE L'ACIDE CITRIQUE**

La bioproduction de l'acide citrique peut être décrite en trois grandes étapes (la préparation de l'inoculum, la fermentation et l'extraction). Deux types de fermentation sont les plus utilisées, à savoir la fermentation submergée ou fermentation en milieu liquide (FML) et la fermentation en milieu solide (FMS). Chacune des deux techniques présente des avantages et des inconvénients ; cependant la fermentation la plus utilisée est la fermentation en milieu liquide (FML).

### **VI- 1 Fermentation en milieu liquide (FML)**

Actuellement, 99% de l'acide citrique total produit dans le monde est obtenu par fermentation (Kuforiji *et al.*, 2010). On estime qu'environ 80% de cette production est obtenue par la FML (Dhillon, 2012; Kumar *et al.*, 2003; Leangon *et al.*, 2000). En effet, cette technique permet de réduire de 2,5 à 25% les coûts d'investissement total et de la main-d'œuvre (Berovic et Legisa, 2007). Elle a plusieurs avantages, comme une productivité et un rendement élevés, ainsi qu'un risque moindre de contamination. En général, elle est réalisée entre 5 et 12 jours. Cependant, les inconvénients sont les coûts énergétiques plus élevés et la commande plus sophistiquée qui exige un personnel plus fortement qualifié (Berovic et Legisa, 2007).

Trois facteurs importants interviennent dans la maîtrise de cette technique de production, qui sont : la qualité de l'acier inoxydable pour la construction du bioréacteur, la structure de mycélium et le transfert de l'oxygène dans le réacteur (Porto de Souza, 2000). La stérilisation est réalisée par une vaporisation sans application de pressions et le refroidissement est réalisé par un film d'eau sur les parois externes du fermenteur (Porto de Souza, 2000).

Bien que la FML soit la méthode la plus utilisée pour la production d'acide citrique, il existe toujours un besoin d'explorer une méthode alternative pour la production industrielle viable et durable d'acide citrique afin de faire face à la baisse des prix et de répondre à la demande croissante du marché en acide citrique.

### **V-2 Fermentation en milieu solide (FMS)**

La fermentation en milieu solide (FMS) est généralement définie comme la croissance de microorganismes sur des substrats humides en absence d'eau libre (Pandey, 1992). La production d'acide citrique par FMS (la méthode la plus simple est le procédé Koji) a été développée au Japon (Kareem *et al.*, 2010; Show *et al.*, 2015). Cette fermentation peut être effectuée en utilisant différentes matières premières. Au cours des dernières années, la

technique a fait l'objet d'un grand intérêt, car elle offre de nombreux avantages pour la production de l'acide citrique et des enzymes (Dhillon, 2012; Romero-Gómez *et al.*, 2000). En effet, les procédés de fermentation à l'état solide ont de faibles besoins énergétiques, produisent beaucoup moins d'effluents et donc engendrent moins de préoccupations environnementales (Dhillon, 2012). La capacité d'utiliser les résidus agro-industriels comme substrats pour la bioproduction de l'acide citrique contribue ainsi à leurs éliminations. En outre, la biotransformation des déchets agricoles tels que : la peau de banane (Max *et al.*, 2010), déchets de coton (Kiel *et al.*, 1981), la peau de kiwis (Hang *et al.*, 1987), les déchets d'ananas (Kareem *et al.*, 2010), la pâte de datte (Mazaheri et Nikkhah, 2010), les déchets orange (Torrado *et al.*, 2011), le son de blé et de soja (Sauer *et al.*, 2008), la pomme de terre et le taro (Arshad *et al.*, 2014) pour la production d'acide citrique a beaucoup amélioré son efficacité économique.

Le tableau 2 présente les avantages et inconvénients de chaque type de fermentation.

Tableau 2:Avantages et inconvénients de chaque type de fermentation

Type	Avantages	Inconvénients
Fermentation en milieu liquide (FML)	Coûts de fonctionnement, d'installation moindres ; coûts de main-d'œuvre réduits	Production importante de chaleur, durées de réaction longues, besoin de grand volume, sensible à la contamination par <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> et autres levures et bactéries lactiques Coûts élevés des milieux, sensibles à l'inhibition par les métaux traces, risque de contamination, quantité importante d'effluents à traiter
Fermentation en milieu solide (FMS)	Technologie simple, rendement plus élevé, grand choix de milieux à faible coût qui ressemble à l'habitat naturel de plusieurs microorganismes, meilleure circulation d'oxygène, moins sensible à l'inhibition par les éléments en traces, moins d'énergie et de coût, moins coûteux pour la valorisation des déchets	Difficultés de mise à l'échelle, de contrôle des paramètres opératoires tels que le pH, l'humidité, la température, les nutriments microbiens, les produits d'impuretés et des coûts plus élevés des produits de récupération

Source : Dhillon, 2012

## VII- FACTEURS INFLUENÇANT LA PRODUCTION D'ACIDE CITRIQUE

### VII-1 Source de carbone

La source de carbone pour la fermentation d'acide citrique a été l'objet de nombreuses études. L'accumulation d'acide citrique est fortement influencée par la nature de la source de carbone (Berovic et Legisa, 2007; El-Gewely, 2007; Saad Nadeem, 2014). En général, seuls les sucres qui sont rapidement absorbés par le champignon permettent un rendement final élevé en acide citrique (Mattey, 1992). La présence de carbohydrates facilement métabolisés est essentielle pour une production satisfaisante d'acide citrique (Porto de Souza, 2000). Les polysaccharides ne sont généralement pas une matière première utile pour la fermentation, car ils se décomposent trop lentement pour correspondre au taux élevé de catabolisme de sucre. L'hydrolyse lente de ces polysaccharides est due à la faible activité des enzymes hydrolytiques à faible pH. Hossain *et al.* (1984) ont montré que le saccharose est la plus favorable source de carbone suivi par le glucose, le fructose et le galactose. Ce dernier contribue à une très faible croissance des champignons et ne favorisait pas l'accumulation l'acide citrique (Hossain *et al.*, 1984). D'autres sources de carbone telles que le sorbose, l'éthanol, la cellulose, le mannitol, l'acide lactique, l'acide malique et l'acide  $\alpha$ -acétoglutarique, permettent une croissance limitée et une faible production. La source de carbone utilisée dans les fermentations industrielles est généralement la mélasse de betterave. D'autres sources telles que la mélasse de canne, la pulpe de fruits, les polysaccharides et les sucres sont utilisées si les conditions locales permettent leur utilisation économique. Ces sources de carbone de faible qualité sont des produits de type déchets et généralement contaminés par des cations provenant des procédés antérieurs.

### VII-2 Oligoéléments, source d'azote et phosphore

Certains oligo-éléments influencent la production d'acide citrique par *Aspergillus niger* (Mattey, 1992). Ce microorganisme a besoin de certains éléments en traces métalliques pour sa croissance. Les métaux essentiels comprennent le magnésium, le phosphore, le potassium (Soccol *et al.*, 2006; Pandey, 2003; Saad Nadeem, 2014). Certains ions métalliques ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  et autres) inhibent la production d'acide citrique par *Aspergillus niger* en FMS (Dhillon, 2012). Des études réalisées par Shu et Johnson en 1948 ont établi les niveaux optimaux de Zn et Fe à respectivement 0,3 et 1,3 ppm (Anastassiadis *et al.*, 2008; Papagianni, 2007). L'addition de Mn à des concentrations aussi faibles que 3 mg/L entraîne une diminution considérable du rendement de l'acide citrique dans des conditions optimales (Clark *et al.*, 1966;

Max *et al.*, 2010). Matthey et Bowes (1978) ont rapporté que l'addition de 10 mg/L de l'ion  $Mn^{2+}$  réduit l'accumulation de l'acide citrique de 50%. La concentration de ces métaux lourds doit être faible afin d'obtenir une croissance optimale d'*A. niger* (Dhillon, 2012; Majolli et Aguirre, 1999).

En FML, les rapports concernant les effets de l'azote et à l'ion phosphate ont été contradictoires. L'ion phosphate est un facteur critique pour la croissance fongique et une concentration en phosphore de 0,5 à 5 g/L est nécessaire pour la production d'acide citrique (Papagianni, 2007; Shu et Johnson, 1948b). L'addition de phosphore n'a qu'un léger effet sur l'accumulation de l'acide citrique et sur la croissance mycélienne (Max *et al.*, 2010; Papagianni, 2007).

Selon Shu et Johnson, (1948a et 1948 b) l'ion phosphate n'a pas besoin d'être limitant pour la production d'acide citrique. En revanche Kristiansen *et al.*, (2002), en utilisant une culture continue, ont conclu que la limitation de l'azote est indispensable pour la production d'acide citrique. En effet, à une concentration supérieure à 0,25%, l'acide oxalique s'accumule et il diminue le rendement de l'acide citrique (Bhushan et Gupta, 2013; Kristiansen *et al.*, 2002; Show *et al.*, 2015). L'azote est non seulement une partie des protéines d'une cellule, mais est aussi nécessaire pour le métabolisme cellulaire (Ali *et al.*, 2002; Show *et al.*, 2015). De ce constat c'est plutôt le type de source d'azote qui influe sur la synthèse de l'acide citrique, ainsi que sur la croissance fongique.

### VII-3 Conditions environnementales

Le potentiel d'hydrogène (pH), l'aération, la température, l'humidité et le type d'inoculum sont plusieurs conditions environnementales qui influencent la production d'acide citrique. Le pH du milieu est important à deux moments différents de la fermentation, pour différentes raisons (Max *et al.*, 2010). Tout d'abord, les spores ont besoin d'un pH supérieur à 5 pour germer alors que toutes les fermentations sont lancées à partir de spores. Ensuite, le pH pour la production d'acide citrique doit être faible ( $pH \leq 2$ ) (Max *et al.*, 2010; Sauer *et al.*, 2008). Un pH trop bas réduit le risque de contamination de la fermentation par d'autres microorganismes et inhibe également la production d'acides organiques indésirables (acides gluconique et oxalique), ce qui rend la récupération de l'acide citrique plus facile (Max *et al.*, 2010; Papagianni, 2007; Show *et al.*, 2015).

L'aération est un facteur déterminant pour la fermentation de l'acide citrique. Un bon taux d'aération conduit à des rendements améliorés et à la réduction du temps de fermentation

(Grewal et Kalra, 1995; Papagianni, 2007; Porto de Souza, 2000). Les variations du taux d'aération peuvent avoir un effet néfaste sur le rendement (Kristiansen *et al.*, 2002; Max *et al.*, 2010). Si le taux d'aération est trop élevé, la pression partielle de CO<sub>2</sub> dissous dans le milieu peut devenir trop faible. Le dioxyde de carbone est important en tant que substrat pour la pyruvate carboxylase qui réapprovisionne l'oxaloacétate pour la synthèse du citrate. L'effet de l'oxygène dissous a été également étudié. Même de courtes périodes de faible tension d'oxygène dissous provoquent des changements irréversibles dans la production d'acide citrique (Kubicek *et al.*, 1980; Max *et al.*, 2010; Papagianni, 2007).

En général, les niveaux d'humidité dans la FMS varient entre 30 et 85%. les plus élevés conduisant à une agglomération des particules, à la limitation du transfert de gaz et à la concurrence des bactéries (Dhillon, 2012; Gowthaman *et al.*, 2001). La température est le facteur le plus important de tous les paramètres physiques pouvant affecter la performance de FMS, car elle affecte la croissance des microorganismes et la production d'enzymes ou de métabolites. Elle peut engendrer des effets importants, tels que la dénaturation des protéines, l'inhibition des enzymes, l'accélération ou la suppression de la production d'un métabolite en particulier, et surtout la mort des cellules (Dhillon, 2012; Pandey, 2003; Pandey *et al.*, 2000).

Les champignons peuvent se développer sur une large gamme de températures de 20 à 55°C, et la température optimale de croissance pourrait être différente de celle de la formation du produit. Une limitation de la FMS réside dans son incapacité à évacuer la chaleur excédentaire produite par le métabolisme des microorganismes en raison de la faible conductivité thermique du milieu solide. Enfin, divers autres paramètres ont également été jugés critiques au cours de la FMS, telles que la vitesse d'agitation, la taille des particules du substrat et la charge de lit (Dhillon, 2012; Kumar *et al.*, 2003; Shojaosadati et Babaeipour, 2002).

## VIII- EXTRACTION DE L'ACIDE CITRIQUE

Il existe plusieurs techniques de récupération de l'acide citrique telles que l'électrodialyse, l'ultrafiltration, la filtration par membrane, la précipitation et l'extraction par solvant, les deux dernières étant les plus pratiquées. La précipitation est la méthode standard à tous les processus, mais elle exige le retrait des micelles du champignon, du bouillon de fermentation et des matières en suspension par filtration (Dhillon *et al.*, 2011; Grewal et Kalra, 1995; Kubicek *et al.*, 1985b)(Grewal et Kalra, 1995; Kubicek *et al.*, 1985). Elle consiste à additionner une quantité de chaux au bouillon de fermentation pour obtenir le citrate de calcium qui sera ensuite décomposé par l'acide sulfurique pour obtenir l'acide citrique. La réussite de l'opération de précipitation dépend de la concentration en acide citrique, de la quantité de chaux additionnée, de la température de traitement et du pH de la solution. Pour obtenir de grands cristaux et une bonne pureté, le lait de chaux contenant de l'oxyde de calcium concentré est ajouté progressivement au bouillon de fermentation à environ 90°C jusqu'à un pH proche de 7. Le processus de neutralisation dure environ une heure. Les pertes minimales d'acide citrique dues à la solubilité du citrate de calcium sont d'environ 4 à 5%. Le citrate de calcium est alors séparé par filtration et décomposé plus tard par l'acide sulfurique concentré pour obtenir l'acide citrique (en solution) et un précipité de sulfate de calcium (le gypse). Après avoir séparé le gypse par filtration, une solution d'environ 25-30% d'acide citrique est obtenue (Show *et al.*, 2015). Cette solution est ensuite traitée au charbon actif et passée entre deux résines dont plusieurs types sont disponibles sur le marché. La solution est finalement concentrée par évaporation à 20-25°C, formant ainsi l'acide citrique monohydrate. La cristallisation qui se fait à des températures plus élevées et donne de l'acide citrique anhydre (Grewal et Kalra, 1995; Show *et al.*, 2015; Vandenberghe *et al.*, 1999).

L'extraction par solvant est une alternative à la purification et à la cristallisation de l'acide citrique. Elle réduit les impacts environnementaux par rapport à la méthode de précipitation en éliminant ainsi la production de gypse. Cette méthode a également été recommandée par la Food and Drug Administration des États-Unis en 1975 pour une utilisation dans les applications alimentaires et pharmaceutiques (Grewal et Kalra, 1995; Porto de Souza, 2000; Show *et al.*, 2015). Cette technique consiste en la mise en contact de la bière de fermentation avec un solvant organique d'extraction non miscible à l'eau. Ce solvant doit comprendre une solution ayant au moins une amine secondaire ou tertiaire dans laquelle le nombre total d'atomes de carbone est au moins 20 et un solvant organique non miscible à l'eau. Le solvant organique non miscible

est choisi parmi les hydrocarbures aliphatiques, les hydrocarbures aromatiques, les fractions de pétrole, les hydrocarbures portant des substituant nitro, les alcools et les mélanges de ceux-ci (mélange de 34% de trilaurylamine, 5% d'octanol et 61% de fraction de pétrole, pourcentages donnés en poids/poids). Le contact entre le solvant et l'extrait liquide de fermentation va former un extrait organique contenant de l'acide citrique et un produit raffiné aqueux contenant une partie d'acide citrique et tous les sels (Bemish *et al.*, 1997). Les solvants organiques généralement employés sont le tri-*n*-butylphosphate, le *n*-octanol, le *n*-butylacétate et la trilaurylamine.

## **Chapitre II: BAGASSE DE POMME DE CAJOU**

### **I- INTRODUCTION**

La production mondiale de noix de cajou était d'environ 1,5 million de tonnes en 2012 (Correia *et al.*, 2013). Le Brésil, longtemps leader de la production de cajou avec 95% de la production mondiale (Santos *et al.*, 2007), est aujourd'hui devancé par la Côte d'Ivoire qui selon, le Ministère ivoirien de l'Agriculture a produit plus 700 mille tonnes de noix de cajou en 2015 et fait de la Côte d'Ivoire le premier pays producteur mondial de noix de cajou (ARECA, 2016). La pomme de cajou représente 9 à 10 fois le poids de la noix (Soro, 2012; Soro *et al.*, 2011) soit près de 7 millions de tonnes de pommes de cajou en Côte d'Ivoire. Contrairement au Brésil où le jus de la pomme de cajou trouve une valorisation alimentaire, après la récolte de la noix, la pomme est délaissée dans les champs sans une valorisation appropriée (Aboh *et al.*, 2011) à cause de croyances populaires qui laissent apparaître que la consommation de la pomme de cajou avec du lait est considérée comme incompatible dans plusieurs pays africains (Soro, 2012). Cette croyance tire sa source des fermes d'exploitation agricole brésilienne pendant l'esclavage. A cette époque, les esclaves noirs travaillant dans les fermes laitières étaient nourris aux fruits de pommes de cajou. Alors pour éviter qu'ils soient tentés de consommer une partie de la production de lait, les fermiers ont montré par une expérience visuelle très simple que la consommation de lait avec la pomme de cajou est incompatible et « mortelle » en ajoutant du jus de pomme au lait de vache. La formation de grumeaux due à l'action de l'acide ascorbique et de l'acide citrique sur le lait aurait impressionné les esclaves. Malheureusement, après l'abolition de l'esclavage, en traversant l'Atlantique les croyances sont devenues un tabou pour les peuples africains producteurs de cajous. Ainsi, la perte de pommes de cajou serait de 90% dans le monde (Filgueiras *et al.*, 1999).

La bagasse représente environ 20% du poids de la pomme de cajou (Santos *et al.*, 2007; Correia *et al.*, 2013; Veiga-Santos *et al.*, 2008). Cette matière lignocellulosique a fait l'objet de quelques études au Brésil pour sa conversion en éthanol de deuxième génération ou en xylitol (Rocha *et al.* 2014 ; Rodrigues *et al.* 2007 ; Correia *et al.* 2013). Si le jus de la pomme de cajou est très riche en vitamine C, en composés polyphénoliques et présente un profil de caroténoïdes très diversifié (Assunção *et Mercadante* 2003; Abreu *et al.* 2013), la bagasse pourrait contenir des composés chimiques de grand intérêt. Elle pourrait alors passer de « déchet agricole » à une source de revenus et d'emplois à l'instar du citron, de l'orange, de la pomme et de l'olive qui trouvent une valorisation de leurs sous-produits (zestes, peau, pulpe).

L'étude menée dans ce travail de thèse porte sur la caractérisation physico-chimique de la bagasse et des lipides spécifiques, l'objectif étant de trouver des substances chimiques d'intérêt potentiel pour sa valorisation. La peau et la pulpe des variétés rouges et jaunes, très fréquentes en Côte d'Ivoire seront étudiées.

## II- ANACARDIER

### II-1 Historique et description

L'anacardier (Figure 6) est une plante à feuilles persistantes appartenant à la famille des anacardiées, originaire d'Amérique tropicale (Michodjehoun-Mestres, 2009). Il fut découvert par les Portugais au XVI<sup>ème</sup> siècle. Les Tupis, une tribu indienne, le désignaient par " Acâ-yú "(Soro *et al.*, 2011b) d'où provient l'appellation « cajou ». Les Portugais l'ont ensuite introduit dans leurs colonies d'Afrique et d'Asie, en premier lieu au Mozambique et dans l'Etat du Kerala en Inde (Lautié, 2001; Martin *et al.*, 1997).

L'anacardier est un arbre très ramifié, à port retombant, pouvant atteindre à l'âge adulte 10 mètres de haut et 14 mètres d'envergure (diamètre de la couronne). C'est un arbre rustique qui supporte bien le vent et sa croissance est optimale dans les régions tropicales où les températures sont comprises entre 20 et 36°C. L'anacardier produit la noix et la pomme de cajou. Il est essentiellement cultivé pour son fruit, composé d'un "faux-fruit" ou "pomme de cajou", périssable, et d'une noix à la coque dure contenant l'amande. La noix de cajou ou anacarde se développe en premier. Elle perd de l'humidité, ce qui la fait rétrécir et durcir jusqu'à ce qu'elle ne représente plus qu'environ 10% du poids du fruit complet. En fonction de la couleur du fruit, on distingue deux types de variétés : rouge et jaune (Figure 7).

### II-2 Fruit et faux fruit de l'anacardier

L'anacardier produit à maturité, quelle que soit la variété, un fruit composé de deux grandes parties. Le pédoncule est une pomme en forme de demi-cône renversée et à l'extrémité de cette pomme se trouve une noix appelée « la noix de la pomme de cajou ». Selon l'utilisation et l'enjeu économique, chacune des deux parties porte le nom de « vrai fruit » ou de « faux fruit ». En effet, grâce à la valeur ajoutée de la noix sur marché mondial, le nom vrai fruit lui fut accordé. Cependant, les industries de jus de fruits accordent cette mention à la pomme. Cette dernière est comestible et très agréable, mais peu valorisée et voire même inconnue du marché mondial (Martin *et al.*, 1997; Ogunmoyela, 1983). Alors le fort succès de la noix lui permet de porter le nom de vrai fruit.



*Figure 6 : Anacardier en production*



Fruit rouge



Fruit Jaune

Pomme de cajou

Noix de cajou

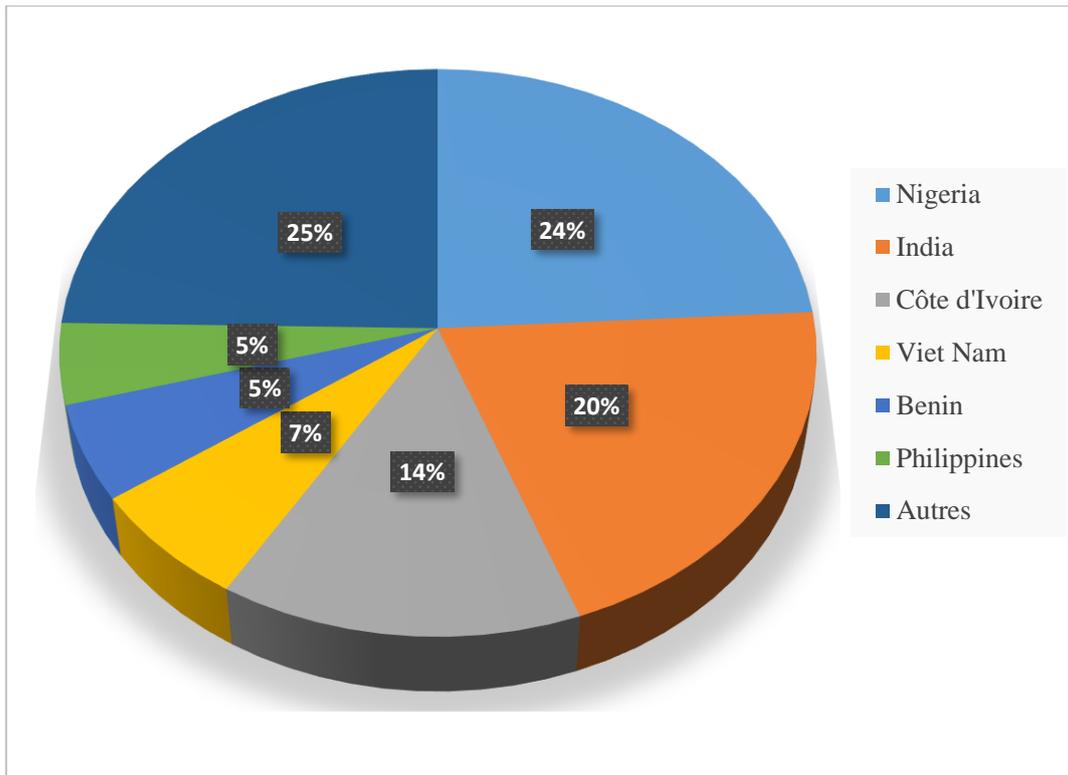
*Figure 7 : Photographie des différentes variétés de la pomme de cajou*

## II-3 Production de noix de cajou dans le monde

### II-3.1 Marché mondial de noix de cajou

Le marché mondial de cajou est relativement nouveau et se résume particulièrement à la noix. La pomme de cajou est pratiquement inconnue sur le marché de la consommation (Ogunmoyela, 1983). Dans la quasi-totalité des pays producteurs, les noix sont récoltées comme fruit principal, tandis que les pommes de cajou sont abandonnées comme déchets (Das et Arora, 2017; Giro *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2007). Le marché mondial commence à apparaître vers les années 1920, avec deux acteurs majeurs qui le dominent à l'époque. L'Inde, le seul exportateur de noix de cajou, et les USA, le seul acheteur (Dendena et Corsi, 2014). Ce marché est très vite rejoint par le Brésil et le Vietnam qui seront des acteurs très importants. Mais en 2011, le Brésil quitte sa place de leader suite à la perte de 99% de sa production de noix de cajou à cause de la sécheresse (Dendena et Corsi, 2014).

Entre 2013 et 2014, la production mondiale de noix de cajou a été de près de 2,67 millions tonnes de (Cashew Handbook, 2014). La moitié de cette production a été apportée par les pays asiatiques. L'Afrique de l'Ouest a contribué pour près d'un tiers (36%) tandis que l'Amérique latine et l'Afrique de l'Est ont contribué pour environ 11 et 8% (Cashew Handbook, 2014; Das et Arora, 2017). Les principaux pays producteurs de noix de cajou à cette période étaient l'Inde (0,774 million de tonnes), la Côte d'Ivoire (0,480 million de tonnes), le Vietnam (0,267 million de tonnes), l'Indonésie (0,134 million de tonnes) et le Brésil (0,134 million de tonnes) (Das et Arora, 2017). Selon la FAO en 2014, les principaux pays producteurs de noix de cajou sont le Nigéria, l'Inde, la Côte d'Ivoire, le Viêt Nam, le Benin et les Philippines (Figure 8). Dans la production africaine et mondiale, la Côte d'Ivoire a fait une percée remarquable et est devenue depuis 2015 le premier pays producteur mondial et exportateur de noix de cajou avec plus de 700 mille tonnes (ARECA, 2016).

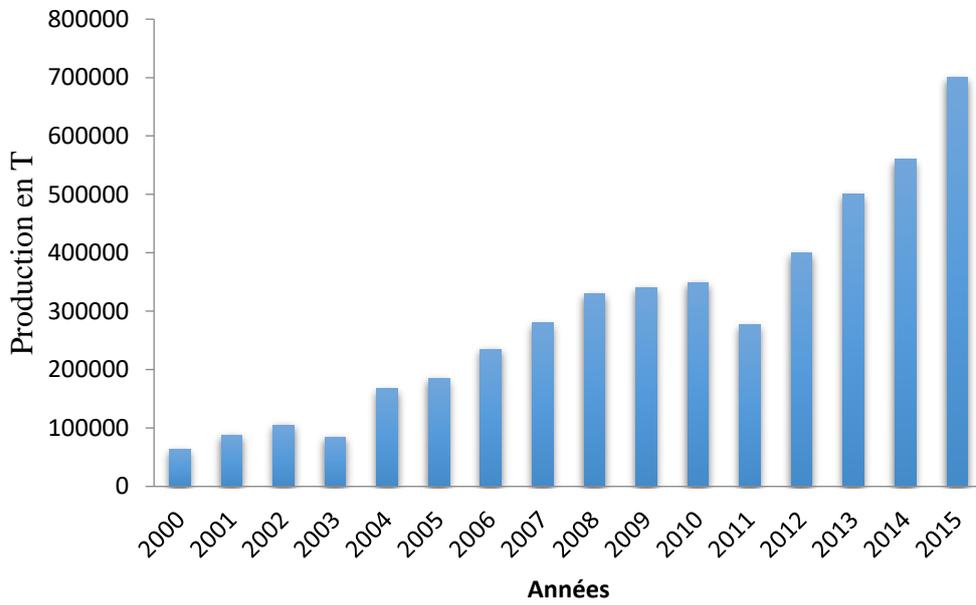


**Figure 8:** Production de pommes de cajou dans le monde  
Source (FAOSTAT,2014)

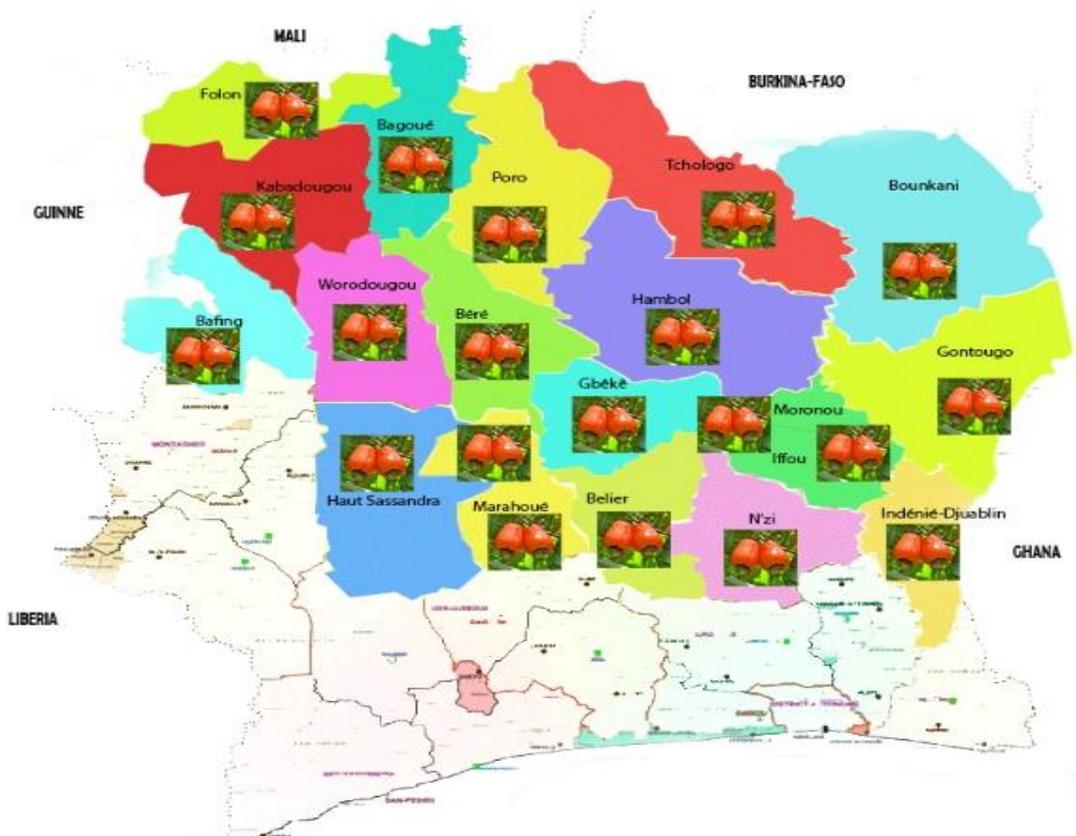
### II-3.2 Dynamique de la production de la noix de cajou

La culture de l'anacarde a été introduite en Côte d'Ivoire vers les années 1960, à l'indépendance du pays. Le but de son introduction était de lutter contre la désertification, et l'érosion des sols dans la partie nord du pays. Quelques années plus tard, elle s'est avérée plus bénéfique et généreuse. Ce reboisement a eu un grand succès et est surtout devenu une source importante de revenus. En effet, grâce à l'augmentation de sa production, la Côte d'Ivoire s'est vite hissée au rang de grand producteur mondial (Cashew, 2014 ; Das et Arora, 2017). Sa production est passée de 6 000 tonnes en 1990 à plus de 700 000 tonnes en 2015 (Figure 9) (ARECA, 2016; Soro, 2012; Yapo et Koffi, 2013). Le nombre d'acteurs autour de la filière anacarde a augmenté de manière exponentielle. Ainsi avec moins de 150 000 producteurs regroupés dans une vingtaine de coopératives en 1990, on dénombre aujourd'hui selon le Ministère de l'Agriculture ivoirienne plus de 300 000 producteurs regroupés dans plus de 250 coopératives. Cette culture fait vivre près de 2 millions de personnes (ARECA, 2016). Malheureusement, cette croissance ne profite toujours pas aux producteurs, car plus de 95% de la production est exportée sous forme brute et le mécanisme de fixation du prix n'est pas à leur

avantage. Les principales zones de production de l’anacarde se situent du centre au nord du pays (Figure 10).



**Figure 9:** Production ivoirienne de noix de cajou de 2000 à 2015  
Source ARECA, 2016



**Figure 10:** Carte de la Côte d'Ivoire présentant les zones de production de pomme cajou

Source ARECA, 2016

### II-3.3 Potentiel de transformation et de valorisation

Avec une superficie de 322 462 Km<sup>2</sup>, la Côte d'Ivoire compte trente régions regroupées en douze districts. La culture de l'anacarde couvre vingt régions (dont sept sur les douze districts) (ARECA, 2016). La majorité de la production est concentrée dans cinq grands districts du Nord (Denguélé, Savanes, Worodougou, vallée du Bandama et Zanzan) (Figure 10). La transformation de la noix de cajou demeure un grand défi de la filière. En effet, selon (Konan et Ricau, 2010), la transformation ivoirienne absorrait moins de 1% de la production nationale. En 2016, l'unité de régulation de la filière a publié les chiffres pour la transformation nationale de l'année 2014 qui est de 6,3% (conseil coton anacarde). Du point de vue de plusieurs experts, la capacité de transformation locale restera très limitée encore dans les années à venir et peu compétitive sur le marché international. Cette tendance a pour conséquence la dépendance de la filière à la demande indienne et vietnamienne.

Cependant, si la filière peut se vanter d'avoir atteint les 6,3% de valorisation de la noix, il n'est pas de même pour la pomme de cajou. La valorisation de cette dernière est quasi inexistante (Abreu *et al.*, 2005; Soro, 2012). En 2015, plus de 7 millions de tonnes de pomme de cajou sont restées sans aucune valorisation. Les industries de jus de fruits restent impuissantes devant la phobie et le scepticisme de la population à la consommation de jus de pomme de cajou. Ainsi, chaque année, des millions de pommes restent dans les champs sans aucune valorisation. Aujourd'hui, de grandes campagnes de sensibilisations médiatique et scientifique sont entreprises dans le but d'éradiquer ce fléau psychique et d'amener la population à la consommation de ce jus de pomme.

Par ailleurs, qu'en sera-t-il de la bagasse de la pomme de cajou ? Continuera-t-elle à demeurer sans valorisation, ne présente-t-elle pas des substances à fort potentiel chimique pour les industries ? La suite cette étude sera basée sur le potentiel chimique de la bagasse de pomme de cajou.

## **Chapitre III : AGRO-FORMULATION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU**

### **I- INTRODUCTION**

Les matières plastiques issues de la pétrochimie ont joué un rôle important dans le quotidien des peuples. Toutefois, la pollution environnementale causée par cette ressource, à l'origine du réchauffement de la planète et de la modification des climats, a entraîné une prise de conscience collective. La recherche d'une alternative à ces matériaux a conduit les chercheurs à s'orienter vers les biocomposites qui connaissent un succès remarquable avec les « agromatériaux ». Ces derniers permettent la valorisation de certaines ressources agricoles non alimentaires (la paille de blé, le tourteau de tournesol, la paille de riz, le lin, le chanvre) par différentes techniques de mise en œuvre (extrusion, injection et thermopressage). Ils offrent plusieurs solutions dans les industries telles que celles du bâtiment (isolation des bâtiments, briques) et des matériaux à usage unique.

Dans ce chapitre, la bagasse de pomme de cajou, abondante en Côte d'Ivoire et non valorisée, sera utilisée pour élaborer des agromatériaux par la technique de thermopressage, très facile en à mettre en place dans les pays moins industrialisés.

Pour mener à bien ce travail, nous présenterons d'abord les biocomposites en particulier les agromatériaux et leurs techniques d'élaboration. Puis, une caractérisation thermique de la bagasse de la pomme de cajou sera effectuée dans le but de déterminer l'intervalle du couple température et pression où cette bagasse subit le moins de dégradation tout en formant un agromatériau. Enfin, des tests d'immersion, mécaniques et bactériologiques seront effectués pour disposer d'une cartographie de caractéristiques essentielles du matériau obtenu.

## **II- BIOCOSITES**

Le préfixe « bio » est utilisé pour de nombreux termes (biomasse, biosourcé, bioéthanol, biocarburant, biomatériau). Dans ce chapitre, il est relatif aux produits obtenus à partir de ressources d'origine végétale.

### **II-1 Composite**

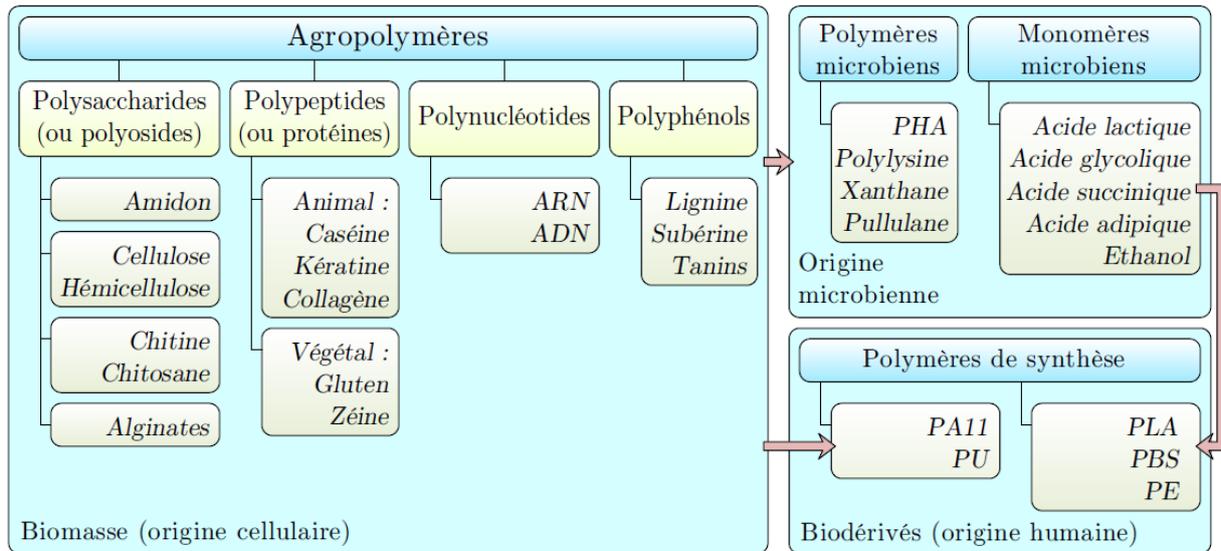
Un matériau composite est un ensemble ou association de matériaux différents par leur nature chimique et par leur propriété, dans le but d'améliorer ses performances en termes de facilité de sa mise en œuvre, de résistance physique, mécanique et chimique (Humbert, 2008). Au sens large, il regroupe une très grande variété de matériaux, naturels ou néoformés, sans préciser la nature de la matrice, des renforts ou des charges, et leurs proportions. Le mot composite est plus utilisé dans le domaine des « plastiques » tels que les thermodurcissables et thermoplastiques (TD ou TP). Dans ces matériaux, la matrice est la phase continue (polymère) qui assure la protection des renforts des attaques chimiques. Les renforts, quant à eux, sont la phase discontinue qui apporte les propriétés mécaniques aux composites.

Selon les études de Humbert en 2008, les avantages des matériaux composites par rapport aux matériaux traditionnels sont :

- l'adaptation du matériau à sa fonction ;
- l'optimisation sur le poids et les contraintes ;
- l'obtention de performances nouvelles (impact, allègement sans pertes de propriétés) ;
- l'abaissement des coûts directs de fabrication et des coûts indirects (durée de vie).

### **II-2 Biopolymère**

Les biopolymères sont des polymères biosourcés issus directement ou indirectement de la biomasse. En fonction du type de biomasse, on distingue deux types de biopolymères qui sont les agropolymères issus du milieu végétal ou animal et les polymères microbiens provenant du monde bactérien (Figure 11). Ces deux sont des biopolymères directs à l'inverse des biodérivés dits indirects qui sont aussi issus de la biomasse et obtenus par la transformation chimique de produits biosourcés (Belard, 2009; Jarroux, 2008; Regazzi, 2013). Les polymères naturels sont majoritairement présents dans cinq grandes familles : les polysaccharides, les polypeptides, les polynucléotides, les polyphénols et polymères microbiens.



**Figure 11 : Origine des polymères biosourcés**

Source : Belard, 2009; Borg et al., 2009; Jarroux, 2008; Regazzi, 2013

Aujourd'hui un important nombre de polymères sont des biodérivés, obtenus par extraction de biomonomères comme le poly(acide lactique) (PLA) dont le monomère, l'acide lactique est un produit de la fermentation de féculs de pommes de terre ou de dextrose de maïs ou encore de mélasse (Regazzi, 2013). Aussi, avec le succès de la lipochimie, la synthèse de biopolymères (polyamides PA ou polyuréthanes PU) est de plus en plus répandue par la conversion de corps gras et de triglycérides (John et Thomas, 2008; Ramamoorthy *et al.*, 2015; Ramesh *et al.*, 2017).

### II-3 Fibres végétales

La nécessité de la valorisation des ressources et des déchets agricoles aurait conduit la science à l'utilisation des fibres naturelles dans les matériaux composites. Ces fibres peuvent être classées en trois groupes dont les fibres animales (laine, poils), les fibres minérales (amiante) et les fibres végétales (tiges, graines, fruits, feuilles) (Oudet, 1994). Les avantages de ces dernières sur les fibres traditionnelles (fibres de verre ou de carbone) sont multiples : faibles coûts, faibles densités, grande ténacité, diminution de l'usure des outils, diminution des irritations dermiques et respiratoires, bonnes propriétés thermiques et bien sûr la biodégradabilité (Humbert, 2008). Les fibres susceptibles de présenter un intérêt en tant que renfort dans les composites sont celles qui remplissent un rôle structurel dans la nature comme les tiges (Cheung *et al.*, 2009; Regazzi, 2013). Une fibre végétale pourrait être assimilable à un

composite dont la matrice principale est constituée d'hémicellulose, de lignine et renforcée par des microfibrilles de cellulose.

Les fibres végétales sont composées de ces trois polymères et complétées par la présence de pectines et de protéines (Moigne, 2008). La plupart des procédés de mise en œuvre de ces composites sont limités à des températures inférieures à 200°C (Baillie, 2005). Les fibres végétales restent la composante principale des agromatériaux.

### **III- AGROMATERIAUX**

#### **III-1 Définition et présentation**

Les agromatériaux sont souvent présentés comme une nouvelle classe de biocomposites. Cependant l'histoire rappelle qu'ils étaient la première forme de technologie. En effet, de l'homme de Neandertal à l'homme moderne, les agromatériaux ont toujours fait chemin avec l'homme au cours de son évolution. Vivant de la chasse et de cueillette, l'homme préhistorique les utilisait déjà sous la forme d'arcs, de flèches, de paniers et bien d'autres. Ensuite à l'ère de l'écriture, ils sont utilisés comme support (papyrus). Ils servent même dans l'habitat (cabane, case) ou comme des récipients à eau (calebasse). Les agromatériaux ont accompagné les navigateurs dans la quête du monde comme navire, barque, pirogue et corbeille. Aujourd'hui encore, malgré les avancées technologiques, les agromatériaux sont utilisés sous d'autres formes (biocomposites). L'une des raisons principales est leur impact environnemental. Avec une agriculture grandissante et dans le souci de valoriser les déchets de cette agriculture, des études impressionnantes ont vu le jour donnant ainsi naissance à la science des agromatériaux avec des utilisations modernes autres que celles des temps anciens.

Les agromatériaux, nouvelle classe de biocomposites, sont principalement caractérisés par une matrice biodégradable formée de biopolymères (amidon, protéines, pectines, hémicelluloses, lignines). Plusieurs types de technologies sont mis en œuvre pour leurs obtentions telles que celles décrites dans le Tableau 3 (Humbert, 2008).

Tableau 3: Exemples d'agromatériaux obtenus par transformation directe de la matière végétale

<b>Matières premières</b>	<b>Transformations en extrudeuse bise</b>	<b>Agromatériaux produits</b>	<b>Références</b>
<b>Paille de blé</b>	Défibrage thermomécanique et extraction alcaline des hémicelluloses et lignines	Plaques de fibres thermopressées	(Magro, 1995)
<b>Paille et son de blé</b>	Défibrage thermomécanique alcaline (arabinoxylane de son, xylane de paille et lignine)	Plaques de fibres thermopressées, films hémicellulosiques	(Marechal, 2001)
<b>Pulpe de betterave</b>	Déstructurations et plastification thermomécanique	Pièces moulables par injection	(Rouilly, 2002)
<b>Tourteau de tournesol</b>	Déstructurations et plastification thermomécanique	Pièces moulables par injection	(Rouilly, 2002; Geneau, 2006)
<b>Maïs plante entière</b>	Déstructurations et plastification thermomécanique	Pièces moulables par injection	(Peyrat, 2000)
<b>Tournesol plante entière</b>	Extraction aqueuse des lipides et protéines déstructurations et défibrage thermomécanique	Plaques thermopressées et pièces thermomoulées	(Evon, 2008)

Source : (Humbert, 2008)

### III-2 Techniques d'élaboration

Les techniques d'élaborations des agromatériaux peuvent être subdivisées en deux groupes ; les techniques traditionnelles et les techniques dites modernes.

#### II-2.1 Techniques traditionnelles

Dans ces techniques, le matériau ne subit pas de transformation chimique. Il reste à l'état initial avec des ajustements ou des modifications en fonction de l'utilisation finale. Par exemple, un tronc d'arbre sert à l'élaboration d'une pirogue en Amérique latine, la paille d'herbe sauvage sert à couvrir la charpente des certaines habitations en Afrique et les feuilles de raphias, de palmiers, de rôniers servent à la conception de corbeilles, de sacs et de nattes.

Ainsi, les exemples d'utilisation des agromatériaux conçus de manière traditionnelle dans la vie courante sont nombreux (Figure 12). Ces techniques mettent en évidence la sculpture, les tresses, le tissage et bien d'autres. Cependant, elles sont très lentes, à faible revenu et subissent une très grande concurrence de l'industrie du plastique. Aussi, ces techniques utilisent une infirme partie des ressources agricoles. Alors un grand souci de valorisation des ressources agricoles s'impose d'où l'avènement des techniques modernes d'élaboration des agromatériaux.



**Figure 12** : Exemples d'agromatériaux obtenus par quelques techniques traditionnelles

Source : A.<httpwww.mandragore2.net> B.<www.maisonsdumonde.com>

### III-2.2 Techniques modernes

Les techniques modernes d'élaboration des agromatériaux utilisent celles de la plasturgie. Les technologies de mises en forme des plastiques sont : l'extrusion, le calandrage, le thermoformage, l'injection, le moulage par réaction (RIM) ou réaction renforcée (RRIM), le rotomoulage, le soudage. Cependant, les plus utilisées sont l'extrusion, l'injection et le thermoformage.

### *III-2.2.1 Extrusion*

L'extrusion est le plus important et le plus répandue des procédés de mise en forme des polymères. Un extrudeur est un système de vis-fourreau équipé d'une filière. Le premier procédé d'extrusion a été breveté en 1797 par un inventeur anglais, Joseph Bramah. Dans le procédé d'extrusion, la matière est chauffée en subissant les étapes suivantes : le transport et le malaxage de la matière, la plastification ou la fusion du polymère grâce à la chaleur apportée (apport thermique et dissipation visqueuse), et la mise sous pression du polymère nécessaire à sa transformation, à son écoulement à travers une filière de mise en forme (Geneau, 2006). La mise en forme des produits peut être réalisée par extrusion lorsque la sortie de l'appareil est munie d'une filière de la taille et de la forme désirées. L'extrusion se subdivise en deux grandes technologies : l'extrusion mono-vis et l'extrusion bi-vis.

L'extrusion mono-vis est la plus répandue et utilisée en industrie agroalimentaire. Elle est constituée d'une vis appelée vis d'Archimède qui tourne dans un fourreau cylindrique régulé en température. Il existe trois zones phénoménologiques : la zone d'alimentation où le polymère est solide (granulés ou poudre plus ou moins compactée) la zone de plastification ou de compression dans laquelle coexiste le polymère solide et en phase fondue.

L'extrusion bi-vis s'effectue avec une extrudeuse à deux vis dans un fourreau non plus cylindrique, mais en forme de « huit » légèrement déformée, et qui est régulé en température. Comparativement à l'extrusion mono-vis, l'extrusion bi-vis offre des particularités intéressantes pour la transformation et la mise en forme des plastiques. Du fait de son fonctionnement similaire à une pompe à vis, l'alimentation est beaucoup plus régulière et les débits peuvent être augmentés. Le mélange est bien plus efficace, et l'homogénéité du polymère en phase fondue est assurée.

### *III-2.2.2 Injection*

Il trouve son origine dès le XIX<sup>ème</sup> siècle avec un brevet déposé par John et Isiah Hyatt en 1872 (Geneau, 2006). Aujourd'hui, il existe plusieurs types de machines d'injection moulage : presse à injecter à piston, à vis de plastification, à injection multiple (à piston, à vis, à piston et à vis). Cette technique d'élaboration rapide a plusieurs avantages comme un fort rendement de production, un coût de production relativement faible par objet, une automatisation du procédé et définition précise de la pièce (précision de la géométrie) (Rubin, 1973). Certains agromatériaux issus de l'amidon et du tournesol trouvent la plupart de leurs applications en injection.

### *III-2.2.3 Thermoformage*

Le thermopressage ou thermoformage est la technologie décrite comme la plus facile à mettre en œuvre avec les biopolymères (Orliac, 2002) dont le comportement se rapproche de celui des thermodurcissables : l'amidon, les fibres lignocellulosiques et les protéines.

Le thermoformage est une méthode de production de matériaux en deux phases qui consiste à faire acquérir, sous l'action de la chaleur et de la pression, une forme particulière à un matériau fibreux. C'est aussi un moulage par compression qui consiste à introduire dans un moule le mélange amorphe qui pendant la compression à chaud s'adoptant à la forme de l'intérieur du moule. La consolidation se fait par simple séchage, par refroidissement (pour les matrices thermoplastiques) ou par apport de chaleur ou d'un précurseur physique ou chimique qui amorce la réticulation des matrices thermodurcissables.

Le thermoformage est l'une des méthodes permettant l'utilisation de toute la biomasse sans ajout d'un autre composé. C'est cette technique qui sera utilisée dans la suite de ce travail pour élaboration des agromatériaux à base de bagasse de la pomme de cajou.

***Deuxième Partie***

***MATERIEL ET  
METHODES***

## **Chapitre I: MATERIEL**

### **I- MATERIEL VEGETAL**

Le matériel végétal utilisé pour les travaux est consigné dans le Tableau 4. Il s'agit de tubercules et de fruits produits et consommés en Côte d'Ivoire.

*Tableau 4:Matériel végétal utilisé et ses appellations locales*

<b>Noms usuels</b>	<b>Noms scientifiques</b>	<b>Noms locaux (Baoulé)</b>
<b>Ananas</b>	<i>Ananas comosus</i>	Ablailai
<b>Banane plantain</b>	<i>Musa paradisiaca</i>	Manda
<b>Banane douce</b>	<i>Musa acuminata</i>	Poyo
<b>Cajou (pomme )</b>	<i>Anacardium occidentale</i>	Anacarde
<b>Corossol</b>	<i>Annona muricata</i>	-
<b>Fruit de la Passion</b>	<i>Passiflora edulis</i>	-
<b>Igname</b>	<i>Dioscorea rotundata</i>	Douho
<b>Mangue fibreuse</b>	<i>Mangifera indica</i>	Assaboni
<b>Manioc</b>	<i>Manihot esculenta</i>	Agba
<b>Mirabelle</b>	<i>Spondias mombin</i>	Tronman
<b>Noix de coco</b>	<i>Cocos nucifera</i>	Kpaco
<b>Orange verte</b>	<i>Citrus sinensis</i>	Lomi
<b>Pamplemousse</b>	<i>Citrus maxima</i>	-
<b>Papaye</b>	<i>Carica papaya</i>	Ôflé
<b>Pastèque</b>	<i>Citrullus lanatus</i>	-
<b>Patate douce</b>	<i>Ipomoea batatas</i>	Alédah
<b>Pomme de terre</b>	<i>Solanum tuberosum</i>	-

### **II- SOUCHE BIOLOGIQUE**

Une souche de référence du genre *Aspergillus*, *Aspergillus niger* NRRL 567 a été utilisée. Cette souche est issue de la banque des souches internationales Northern Utilization Research and Development -United States (NRRL 567). Elle appartient au laboratoire Centre Eau Terre Environnement (ETE) de l'Institut National de Recherche Scientifique (INRS) de l'Université du Québec.

La souche d'*Aspergillus niger* est cultivée sur de la gélose au dextrose de pomme de terre (PDA) pendant 96 heures à  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  et stockées à  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  pour utilisation. Un repiquage est réalisé une fois par mois.

### III- MATERIEL TECHNIQUE

Le matériel de laboratoire utilisé est consigné dans le Tableau 5.

Tableau 5:Le matériel de laboratoire

<b>Désignation</b>	<b>Marque Numéro de série Origine</b>	<b>Utilisation</b>
Autoclave	014MPO/19987/Chine	Stérilisation du milieu de culture et des substrats
HPTLC Linomat V	Camag, Muttenz, Suisse	Détermination des familles lipidiques
Bain-marie	COGEDA-SA/SHZ 88-1 Chine	Maintenir les échantillons à température constante
Balance [120 g ± 0.0001]	Scout pro OHAUS/SPU123 USA	Pesée des différentes masses de substrats et de cellulose
Broyeur électrique	IKA M20/France	Pour broyer les substrats
Centrifugeuse	TDL-4/988/Chine	Centrifugation des échantillons à doser
CPG	Perkin Elmer	Dosage de phytostérols
Etuve	Memmert/Allemand	Pour réaliser la fermentation à température optimale
Fibertec	M2 de FOSS®	Détermination ADF/NDF
Gel de silice	60 NH2 F254/Merck	Pour la CCM
Hotte	CA-920-2/760	Ensemencement et prélèvement dans les conditions aseptiques
HPLC Dionex	Dionex RF 2000	Détermination des tocophérols
Thermopresse hydraulique	MAPA50 (Pinette Emidecau Industries, France	Réalisation des agromatériaux
Kjeldhal	Kjeltec™ 8420	Analyse des protéines
Microscopie (MEB)/FEG FEI	Quanta 250 Société FEI, Hollande	Réalisation de la microscopie électronique à balayage
PERKIN ELMER Diamond	Perkin Elmer Diamond/ USA	TGA (Thermogravimétrique Analysis)
PERKIN ELMER Pyris 1	Perkin Elmer Pyris 1/ USA	DSC Calorimétrie à balayage différentiel
pH-mètre	HANNA/HI8424/Roumanie	Mesure du pH
Plaque chauffante	J.P.SELECTA/0388258 Espagne	Pour la préparation du milieu de culture
Rotavapor	IKA RV 10	Evaporation des solvants
Spectromètre Perkin Elmer	Spectrum BX FT-IR	Collecte de spectres IR
Spectrophotomètre	JASCO/UV- VISIBLE V-350/Japon	Lecture de la concentration en acide citrique
Thermomètre super scientifique	800004 Type K/J S/062154 Taiwan	Mesure de la température
Vortex	REAMIX/2789/Taiwan	Homogénéisation
Cellule de Thomas	ZMB010 ZUZI	Comptage des spores

## IV- REACTIFS ET STANDARDS

Les réactifs et les standards utilisés sont consignés dans le Tableau 6.

Tableau 6: Réactifs et standards

Désignation	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)	Identifiant / Origine
Pyridine	79,10	99,7	CAS :110-86-1 (Allemagne)
Anhydride acétique	102,09	96	CAS : 108-24-7 PROLABO (France)
Carbonate de calcium	100,09	99	CAS : 1317-65-3 SDS (France)
Acide sulfurique	98,08	95	CAS 7664-93-9 MERCK (Allemagne)
Acétate d'éthyle	88,11	99,5	CAS :141-78-6 CHEMICAL REAGENT (Chine)
Chlorure de sodium	58,44	99,5	CAS : 7647-14-5 Euclid (Inde)
Acide chlorhydrique	36,46	37	CAS: 7647-01-0 MERCK Germany
Acide nitrique	63,01	65	CAS : 7697-37-2 EMSURE Germany
Chloroforme	119,38	99	CAS : 67-66-3 SIGMA /France
Ethylène diamine tétra-acétique de sodium (EDTA)	292,24	98	CAS : 6381-92-6 SIGMA /France
Bromure d'hexadécyltriméthyl ammonium (CTAB)	364,45	99	CAS : 57-09-0 SIGMA /France
Permanganate de potassium	158,03	99	CAS :7722-64-7 SIGMA
Borate de sodium décahydraté	381,37	99,5	CAS : 1303-96-4 SIGMA
Hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH)	94,18	POUR CPG	CAS : 17287-03-5 SIGMA
Milieu Sabouraud	-	Pour microbio	S3181 SIGMA

## Chapitre II : METHODES

### I- ACIDE CITRIQUE

#### I-1 Hypothèses, objectifs et originalité

##### Hypothèses

*Aspergillus niger* est capable de croître sur divers déchets agricoles solides. En fonction de la composition des substrats et en particulier de la teneur en sucres simples du pH du milieu, de l'humidité et de la teneur en certains métaux comme le zinc, le fer, le manganèse et le magnésium. Les sous-produits agricoles sont très riches en monosaccharides et en autres nutriments essentiels. Cela permettrait l'utilisation de ces substrats bruts sans aucune supplémentation en nutriments pour les champignons. Ceci serait applicable pour la production des composés à haute valeur ajoutée, tels que l'acide citrique.

Les sous-produits agricoles du centre de la Côte d'Ivoire sont riches en sucres simples et/ou en amidon. Ils contiennent sans doute des éléments minéraux naturels. Nous pensons qu'ils peuvent représenter une matière première à bas coût et efficace pour la production d'acide citrique via la fermentation en milieu solide par *Aspergillus niger*.

Méthodologie de l'étude suit les étapes suivantes :

- criblage de différentes sources disponibles en fonction d'un test simple de fermentation ;
- sélection des sous-produits les plus prometteurs ;
- étude sur l'effet des minéraux : ceux connus dans la littérature (zinc, fer, manganèse, potassium et magnésium) et d'autres qu'on retrouve dans le sol ivoirien et qui n'ont pas été l'objet d'étude précédente (le cadmium et le plomb).

##### Objectifs

L'objectif général est d'identifier parmi les sous-produits agricoles utilisés le meilleur en termes de rendement pour la production d'acide citrique par *Aspergillus niger* via la fermentation.

Objectifs spécifiques :

Les objectifs spécifiques sont :

- d'étudier l'effet de la teneur en sucres totaux des fruits hors circuit commercial (papaye, pomme de cajou, mangue, orange, ananas, corossol, mandarine, pastèque et pamplemousse) et de la teneur en amidon des amylacés (patate douce, pomme de terre, igname et manioc) sur la bioproduction d'acide citrique par *Aspergillus niger*
- d'étudier les facteurs internes inhibiteurs (les métaux lourds) et inducteurs (les nutriments) dans la production d'acide citrique

## Originalité

L'originalité de cette étude se justifie par différentes raisons. Tout d'abord, elle s'inscrit dans la démarche de la recherche de sous-produits agricoles pour la synthèse des composés à haute valeur ajoutée, dans une zone faiblement industrialisée. Ensuite, elle permettra de connaître l'effet des métaux lourds sur la fermentation. Enfin, elle aurait des répercussions positives sur les industries alimentaires et le monde agricole ivoirien. En effet, la valorisation des sous-produits générés par le monde agricole qui représentaient auparavant un problème majeur serait maintenant un atout économique.

## I-2 Echantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé pendant les années 2014, 2015 et 2016 en fonction des saisons de chacun des échantillons. Les collectes d'igname, de patate douce, de manioc et de pomme de terre ont été réalisées dans les deux grands marchés de la commune de Yamoussoukro chez des distributeurs de coopératives paysannes chaque année. Ils étaient sans défauts visuels sauf la banane hors circuit commerciale qui était en voie de décomposition. La pomme de cajou, la mangue de variété Adams, la pamplemousse, l'avocat, le citron, la banane douce, le corossol, le fruit de passion, la mandarine, la mirabelle, la noix de coco, l'orange verte, et la pastèque ont été récoltés dans des champs de fruit (Moronou fruit et Djédrikro) dans le district de Yamoussoukro.

Ces échantillons furent classés en deux groupes qui étaient :

- le groupe des déchets amylacés composé des déchets d'épluchures de chacun des échantillons suivants : de l'igname, de la patate douce, de pomme de terre, de la banane plantain, et du manioc ;

- le groupe des déchets sucrés composé : de peau d'ananas, de peau de banane douce, de râpé de noix de coco et des tourteaux (bagasse) issus de l'extraction du jus de fruits de la mirabelle, d'orange, de pamplemousse, de mangue, de papaye, de passion, de pastèque et de pomme de cajou.

### **I-3 Test de criblage**

Le test criblage a concerné tous les échantillons dans l'objectif de sélectionner les meilleurs pour la production d'acide citrique. La méthode de fermentation qui a été choisie est la fermentation en milieu solide (FMS). Ainsi en vue d'éliminer toutes les impuretés physiques (matières organiques, poussière), les fruits ont d'abord été lavés à l'eau de robinet. Ils ont ensuite été épluchés et dénoyautés (pour les fruits à noyau) puis broyés individuellement à l'aide d'un broyeur électrique (IKA M20). Une masse de 50 g de chaque échantillon a été prélevée et stérilisée à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes. Après cette opération les échantillons ont été refroidis sous une hotte à flux laminaire vertical (SUPCRIS) puisensemencés avec une suspension fongique d'*Aspergillus niger* à une concentration  $10^7$  spores/ mL (Dhillon, 2012). Enfin, ces échantillons ont été laissés dans un incubateur oxygéné à 29°C pendant 3 jours.

### **I-4 Test de fermentation d'acide citrique**

Contrairement à la phase de criblage où la durée des fermentations était de 3 jours, les tests de fermentation ont été réalisés dans les mêmes conditions mais en 12 jours (figure 13) avec 250 g de chaque échantillon. Les échantillons concernés par ce test étaient : les déchets de papaye, les déchets de mangue, les déchets d'épluchure d'igname, les déchets d'épluchure de la patate douce et les déchets de la pomme de cajou.

Au cours de la fermentation, les paramètres externes tels que la température de l'étuve (29°C) et l'oxygénation du milieu ont été contrôlés. Par contre les paramètres internes (évolution du pH du milieu, croissance du mycélium, variation de nutriment et des métaux du milieu de fermentation) sont relatifs au type de substrats. Hormis la croissance du mycélium, les valeurs de ces derniers ont été déterminées tous les trois jours durant la fermentation. La figure 13 présente des photographies des différents milieux du cycle de fermentation. La fin de la fermentation est marquée par la présence de substances blanches qui recouvrent toute la surface du milieu. Le mycélium quant à lui devient vieux et produit de la poudre. La surface de départ qui avait la couleur du substrat devient noire avec une présence importante de substances blanches.

### I-5 Préparation de l'inoculum

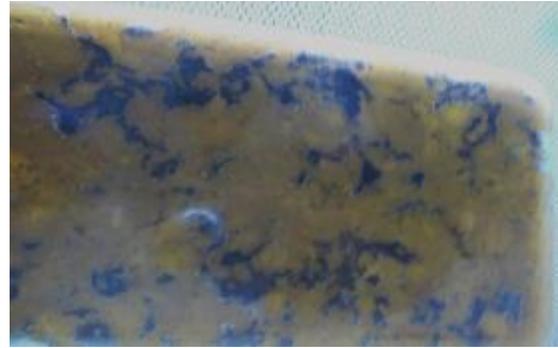
La souche d'*Aspergillus niger* NRRL 567 a été repiquée sur le milieu Sabouraud au chloramphénicol (BIOA-RAD, France) dont la composition (en g/l) est présentée dans le tableau 7 la souche a été ensemencée et dans des conditions stériles dans des boîtes de Pétri de 90 cm de diamètre contenant 10 mL du milieu Sabouraud. Après une semaine d'incubation à 30°C, des spores sont apparues à la surface du tapis mycélien. Ils ont été récupérés dans de l'eau distillée stérile à l'aide d'une raclette puis ont été dénombrés à l'aide de la cellule de Thomas. La suspension fongique a été ensuite diluée pour obtenir une concentration d'environ  $10^7$  spores/ mL. Le tableau 7 présente la composition du milieu Sabouraud au chloramphénicol.

Tableau 7 : Composition du milieu Sabouraud au chloramphénicol (BIOA-RAD, France)

Produits	peptone de caséine	peptone de viande	D <sub>(+)</sub> Glucose	Chloramphénicol	Agar
Quantités (g/L)	5,0	5,0	40,0	0,5	15,0



Jour 0



3<sup>ème</sup> jour



6<sup>ème</sup> jour



9<sup>ème</sup> jour



12<sup>ème</sup> jour



Incubation

*Figure 13 : Photographie du cycle de fermentation de l'acide citrique*

### **I-6 Dosage des sucres totaux**

Le dosage des sucres a été réalisé sur les 17 échantillons avant et à la fin du test de criblage.

Avant le dosage des sucres, sucres éthanosolubles ont été extraits. La méthode utilisée a été celle décrite par Dubois *et al*, en 1956.

Une masse d'un gramme d'échantillon est homogénéisée au vortex dans 10 mL d'éthanol à 80%. L'opération est répétée deux fois puis les surnageants résultant sont rassemblés. Un volume de 2 mL de solution d'acétate de plomb à 10% est ajouté et l'ensemble est centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes. Le surnageant est récupéré et 2 mL d'une solution d'acide oxalique à 5% sont ajoutés. L'ensemble est encore centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes et le surnageant est récupéré dans une fiole de 25 mL.

L'excès d'éthanol est évaporé sur bain de sable et le volume résultant complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. Les sucres totaux de l'extrait éthanol soluble sont dosés selon la méthode décrite par Dubois *et al*, en 1956.

### **I-7 Détermination du potentiel d'hydrogène**

La détermination du potentiel d'hydrogène (pH) est essentielle pour le contrôle des milieux, avant et après la fermentation, la méthode utilisée a été décrite par Dhillon en 2012. Sa variation renseigne sur la croissance des champignons, donc sur la transformation des sucres en citrate. Pour la mesure du pH des milieux, 1 g des échantillons a été prélevé et dissous dans 5 mL d'eau distillée. Le mélange a ensuite été centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 min. Le surnageant a été récupéré pour la mesure du pH à l'aide d'un pH-mètre (HANNA HI 8424) préalablement étalonné (Dhillon, 2012). L'électrode est plongée dans la solution et l'appareil affiche numériquement la valeur du pH.

### **I-8 Dosage de l'acide citrique**

L'acide citrique a été dosé selon la méthode de Marier et Boulet modifiée par Dhillon en 2012 pour une transmission de 100%. Le principe consiste en la mise en œuvre d'une réaction de coloration sous l'action combinée de la pyridine et de l'anhydride acétique à 32°C, en présence d'acide citrique. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en citrate. La densité optique est lue au spectrophotomètre UV à une longueur d'onde de 420 nm.

Pour le dosage de l'acide citrique, 2,5 g des différents milieux fermentés ont été prélevés et dissous dans 12,5 mL d'eau distillée. Puis l'ensemble a été homogénéisé à l'aide d'un vortex et

centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 min. Ensuite à 1 mL du surnageant, a été ajouté 1,3 mL de pyridine et 5,7 mL d'anhydride acétique puis placé immédiatement dans un bain à 22°C pendant 30 minutes. Le mélange devint coloré. Cette coloration est lue au spectrophotomètre UV sur courbe d'étalonnage préalablement établie et permet de calculer la concentration de la solution en acide citrique selon la formule suivante et est exprimée en g/kg (Dhillon, 2011).

$$C = \frac{C_l \times V}{m} \quad (1)$$

Avec :

$C$  la concentration réelle d'acide citrique (en g/kg);

$C_l$  La concentration d'acide citrique lue au spectrophotomètre en (g/L) ;

$V$  le volume de récupération (en L) ;

$m$  La masse de substrat fermenté utilisée en (kg).

### I-9 Dosages des éléments minéraux

La détermination des éléments minéraux a été effectuée par absorption atomique à flamme air-acétylène à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique type VARIAN (AAS 20). Une masse de 0,3 g de l'échantillon mis dans un creuset est calcinée à 600°C pendant 6 h jusqu'à obtention d'une cendre blanche. Après refroidissement, 5 mL de solution d'acide nitrique à 1N ont été ajoutés dans le creuset puis évaporés à sec au bain de sable. Au résidu obtenu, 5 mL d'acide chlorhydrique à 1N ont été ajoutés et l'ensemble est remis au four à 450°C pendant 30 min. Ensuite, 10 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à 0,1N sont ajoutés puis l'ensemble est transvasé dans une fiole jaugée de 50 mL. L'opération a été répétée trois fois. Le contenu de la fiole est complétée jusqu'au trait de jauge à l'aide d'eau distillée. La teneur en éléments minéraux ( $T$  en mg/kg) est déterminée par la formule de la relation 2.

$$T = \frac{C_{lut} - C_{blanc}}{m} \times V \quad (2)$$

Où :

$C_{lut}$  est la concentration lue (mg/L) ;

$C_{blanc}$  est la concentration du blanc (mg/L);

V est le volume de récupération (la fiole de 50 mL);

m est la masse de l'échantillon (g).

## II- CARACTERISATION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU

### II-1 Hypothèses, objectifs et originalité

#### Hypothèses

La bagasse de pomme de cajou, obtenue après extraction du jus, renferme des lipides et d'autres familles de composés chimiques. La bagasse représente 20% du poids de la pomme et la Côte d'Ivoire en totalise plus d'un million de tonnes de pommes pour une valorisation potentielle.

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à l'identification et à la quantification des principales fractions issues des résidus de la pomme de cajou, après extraction de son jus (la bagasse).

#### Objectifs

L'objectif général de cette étude est la valorisation de la bagasse de pomme de cajou dans le domaine de la chimie.

Les objectifs spécifiques sont :

- déterminer la composition physico-chimique (polysaccharides, lipides, protéines et pectines) des composantes (pulpe et peau) de la bagasse de la pomme de cajou des variétés rouge et jaune.
- déterminer le profil des acides gras et des insaponifiables de la pulpe et de la peau de la pomme de cajou.

#### Originalité

Les rares études sur la bagasse de la pomme de cajou ne concernent que les compositions lignocellulosique et chimique. De plus, les échantillons proviennent d'industries brésiliennes de jus qui utilisent des fruits n'ayant pas atteint la pleine maturité. Dans notre étude, les pommes récoltées sont à maturité complète. Nous avons pris le soin de séparer de la bagasse la pulpe et la peau contrairement aux autres études. L'étude des lipides issus de la bagasse de la pomme de cajou pourrait bien être la première dans la recherche scientifique.

## II-2 Préparation de l'échantillon

Le matériel végétal utilisé est constitué de pommes de cajou très mures de couleur rouge et jaune (figure 14) récoltées chaque premier trimestre des années 2015 et 2016 dans un champ de 11 hectares à proximité de la ville de Yamoussoukro, au centre de la Côte d'Ivoire. Les noix ont été séparées minutieusement des pommes et ces dernières ont été pressées pour extraire le jus avec une presse mécanique sans destruction de la pomme. Ainsi la bagasse a été obtenue comme présenté sur la figure 15.

A cette bagasse, la peau de la pomme est retirée délicatement à la main. Trois échantillons ont été obtenus constitués de : peaux rouges (R), peaux jaunes (J), et le mélange des pulpes (P) des deux variétés. D'où la bagasse était l'ensemble des pulpes et des peaux des deux variétés séparées.

Les échantillons ainsi obtenus ont été rapidement lavés avec de l'eau distillée à température ambiante (25°C et 28°C) jusqu'à obtenir une eau de lavage épuisé en sucre (0°Brix) et séchés dans une salle à une température ambiante à l'abri de la lumière (Figure 14). Finalement, les échantillons séchés ont été broyés et tamisés séparément dans un tamis de granulométrie inférieur à 1 mm puis conservé dans une chambre hydroclimatique à 40°C et d'humidité relative de 60%. Ainsi chaque année environ 100 kg de bagasse (75 kg de pulpe, 12,5 kg de peau de couleur rouge et 12,5 kg de peau de couleur jaune) a été collecté. L'ensemble du processus est résumé par la Figure 15 pour 100 kg de pommes fraîches et la figure 13 la collecte et séchage de cette bagasse.



*Figure 14 : Photographies de pomme de cajou collecté (A) et échantillons de bagasse de pomme de cajou séché (B)*

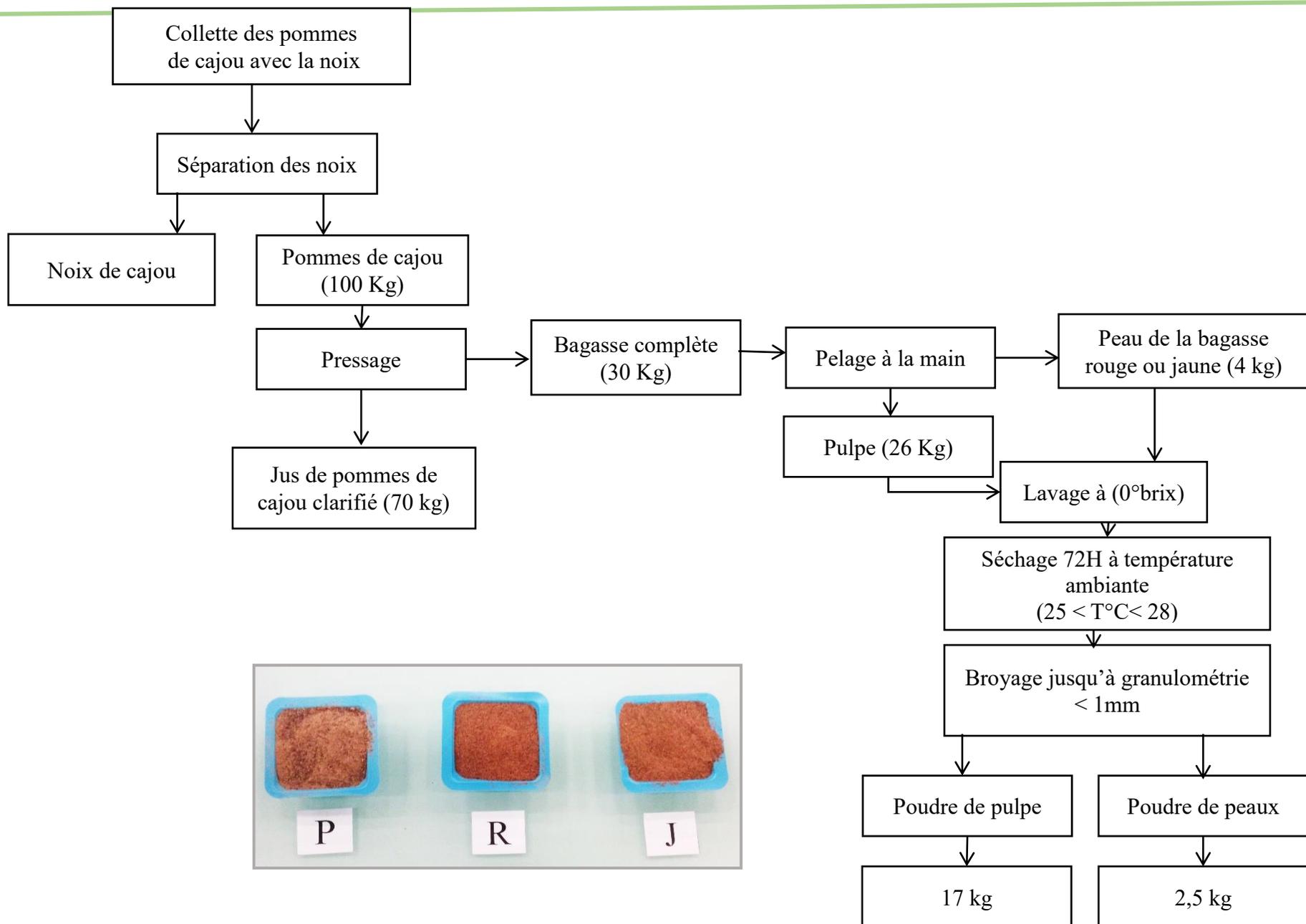


Figure 15 : Processus d'échantillonnage de la bagasse pour 100 Kg de pommes de fraîches (P : Pulpes, R : Peaux rouges et J : Peaux jaunes)

### II-3 Caractérisations physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques telles que : le taux d'humidité, matière sèche, teneur en cendre, teneur en protéine, teneur en pectine, teneur en cellulose, hémicellulose et lignine ont été déterminées dans les trois échantillons de la bagasse (pulpe, peau rouge et peau jaune).

#### II-3.1 Taux d'humidité et matière sèche

Ce procédé consiste en un étuvage à une température et dans des conditions opératoires définies. Les échantillons sont séchés à l'étuve à 103°C jusqu'à masse constante. La différence avant séchage sert de mesure pour les teneurs en eau et matière sèche.

Le taux d'humidité et la matière sèche ont été déterminés selon la norme NF V 03- 909 (1988).

Un creuset de pesée a été préalablement séché à l'étuve à 103°C pendant 15 min jusqu'à poids constant ( $m_0$ ). Après refroidissement au dessiccateur, 1 g de la bagasse broyée y est ajouté et l'ensemble est pesé ( $m_1$ ). Le creuset contenant la bagasse a été séché à l'étuve pendant 16 h à 103°C puis refroidit au dessiccateur et pesé ( $m_2$ ). Cette opération est répétée jusqu'à l'obtention d'une masse  $m_2$  constante. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage  $T_H$  et la teneur en matière sèche (% MS) ont été déterminés selon les formules des relations 3 et 4.

$$T_H = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \text{ (en g/100 g de substance)} \quad (3) \text{ Avec :}$$

$m_0$  : la masse du creuset (en g) ;

$m_1$  : la masse de la bagasse et du creuset avant séchage (en g) ;

$m_2$  : la masse de la bagasse et du creuset après séchage (en g).

$$\%MS = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (4)$$

### II-3.2 Teneur en cendres

Le taux de cendre a été déterminé selon la norme NF V 03- 909 (1988). Les cendres totales sont le résidu de composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origines végétale, animale ou synthétique. L'échantillon est incinéré à 600°C et maintenu à cette température jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Le pourcentage des cendres est calculé à partir de la masse du résidu après incinération. Un creuset a été séché à l'étuve à 103°C pendant 1 heure et pesé ( $m_0$ ). Après retrait et refroidissement au dessiccateur, 1 g de la bagasse broyée y a été introduit et l'ensemble a été mis à l'étuve à 103°C jusqu'à l'élimination de l'eau. Le creuset contenant l'échantillon déshydraté a été mis au four à 600°C jusqu'à l'obtention de cendres visiblement dépourvues de particules charbonneuses. Le creuset a été refroidi au dessiccateur jusqu'à température ambiante et pesée rapidement ( $m_3$ ). Le taux de cendre ( $T_C$ ) a été déterminé à partir de la formule de la relation 5.

$$T_C = (m_3 - m_0) \times \frac{100}{(m_s)} \quad (5)$$

Dans cette relation :

$m_0$  représente la masse du creuset vide (en g) ;

$m_s$  représente la masse de matière sèche (en g) ;

$m_3$  représente la masse du creuset et de la cendre (en g).

### II-3. 3 Détermination du potentiel hydrogène

Le pH a été déterminé selon la méthode décrite par (Dhillon, 2012). Trois (3) g de chaque échantillon ont été prélevés et dissous dans 15 mL d'eau distillée et laissés sous agitation pendant 10 min. Le mélange a ensuite été centrifugé à 3000 tours/minute pendant 5 min et le surnageant a été récupéré pour la mesure du pH.

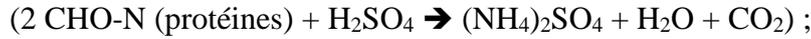
La détermination du pH s'effectue à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné. L'électrode est plongée dans la solution et l'appareil affiche numériquement la valeur du pH.

### II-3.4 Teneur en protéines

La teneur en protéines a été déterminée selon la norme française NF EN ISO 5983 (2005) par la méthode du Kjeldhal. Cette méthode consiste à minéraliser l'azote organique contenu dans l'échantillon pour obtenir un sel d'ammonium. En présence d'une solution alcaline, ce sel

libère de l'ammoniac qui est ensuite piégé et quantifié par un dosage acido-basique. Le processus suit plusieurs étapes. Ce sont :

- la minéralisation avec l'acide sulfurique concentration à chaud en présence d'un catalyseur



- la réaction d'alcalinisation par la soude



- la réaction de piégeage de l'ammoniac dans une solution d'acide borique à 1%



- le dosage en retour par une solution d'acide chlorhydrique à 0,1 N



Soit l'équation bilan  $\text{CHO-N (protéines)} + \text{HCl} \rightarrow \text{Cl}^- + \text{NH}_4^+$

Les échantillons de bagasse de pomme de cajou sont en général préparés la veille en mélangeant la prise d'essai (de 0,1 à 1,5 gramme d'échantillon selon la teneur estimée en protéines) et l'acide sulfurique concentré (12,5 mL à 95%) dans le tube de minéralisation. Le lendemain, deux pastilles de catalyseur ( $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ ) sont introduites dans le tube avant de minéraliser le mélange à 400°C pendant environ 1h. Durant cette étape, la totalité de l'azote de l'échantillon est transformée en ions ammoniums. Après refroidissement des tubes de minéralisation, l'azote minéralisé est titré. Après avoir installé les tubes dans le passeur Kjeltex™ 8420 couplé avec lui, l'analyseur Kjeltex™ 8400 délivre de l'eau distillée puis de la soude à 40% dans le tube pour transformer les ions ammoniums en ammoniaque. La distillation du contenu du tube permet d'entraîner à la vapeur l'ammoniac produit par l'ajout de soude, que l'on piège dans une solution d'acide borique à 1% colorée par un mélange d'indicateur (vert de bromocrésol et rouge de méthyle).

La quantité d'acide borique qui a servi à neutraliser l'ammoniac dégagé est compensée lors du dosage par une solution d'acide chlorhydrique à 0,1 N afin de revenir à la couleur de départ de l'acide borique (indicateur).

$$\% \text{Azote} = \frac{(\text{V}_{\text{eq}} - \text{V}_{\text{blanc}}) \times \text{Titre}_{\text{HCl}} \times \text{M}_{\text{azote}}}{m_{\text{prise d'essai}} \times \% \text{MS}} \quad (6)$$

Avec  $\text{V}_{\text{eq}} - \text{V}_{\text{blanc}}$  en litre,  $m_{\text{prise d'essai}}$  en gramme et  $\text{Titre}_{\text{HCl}}$  en mole par litre

Le taux de protéines est obtenu à partir de la formulation de la relation 7.

$$\% \text{protéine} = \% \text{Azote} / \alpha = \frac{(V_{eq} - V_{blanc}) \times \text{Titre}_{\text{HCl}} \times M_{\text{azote}}}{m_{\text{prise d'essai}} \times \% \text{MS} \times \alpha} \quad (7)$$

$\alpha$ , représente la teneur moyenne en azote dans les protéines et est par défaut estimée à 16% d'azote dans les protéines.

Avec :

$V_{eq}$  est le volume à l'équivalence de l'échantillon pendant la titration ;

$V_{blanc}$  est le volume du blanc pendant l'essai ;

$\text{Titre}_{\text{HCl}}$  est la normalité de l'acide chlorhydrique ;

$M_{\text{azote}}$  est la masse molaire de l'azote ;

$m_{\text{prise d'essai}}$  est masse de prise essai ;

$\% \text{MS}$  est pourcentage en matière sèche de l'échantillon.

### II-3.5 Teneur en pectines

La teneur en pectines est mesurée selon une adaptation de la norme NF V05-128 (1984) qui consiste à extraire les pectines par l'acide chlorhydrique à 0,05 N après plusieurs lavages à l'éthanol. La teneur en pectines extraites est ensuite déterminée selon la méthode de Blumenkrantz et Asboe Hansen en 1973. Cette dernière consiste en l'hydrolyse des pectines en milieu acide sulfurique concentré, libérant les acides galacturoniques qui sont dégradés en acides 5-formyl furoïques. Ces derniers par condensation avec le *m*-hydroxydiphényle forment un complexe chromophore, de couleur rose dosée par spectrophotométrie UV-visible à 520 nm. L'étalonnage est réalisé à partir d'une solution d'acide galacturonique. Le résultat est exprimé en % d'acide galacturonique par rapport à la matière sèche.

Dans des tubes de 10 mL, sont ajoutés 0,5 mL de la solution à analyser (étalon ou eau déminéralisée pour le blanc) et 3,0 mL d'une solution de tétraborate de sodium à 0,0125 M dans l'acide sulfurique concentré. Les tubes sont ensuite fermés et introduits pendant 15 minutes dans un bain-marie à 100°C puis refroidis dans un bain de glace. Pour les analyser, les étapes suivantes sont suivies pour chacun des tubes, un volume de 50 µL d'une solution à 0,15% (m/v) de *m*-hydroxydiphényl dans la soude à 0,5% (m/v) (réactif) est ajouté et l'ensemble est homogénéisé à l'aide d'un vortex. La mesure de l'absorption par spectroscopie UV à 520 nm est réalisée pendant 6 minutes.

La valeur d'absorption retenue est la valeur maximale atteinte durant la cinétique. Les teneurs en acide galacturonique sont ensuite calculées suivant la loi de Beer-Lambert.

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C \quad (8)$$

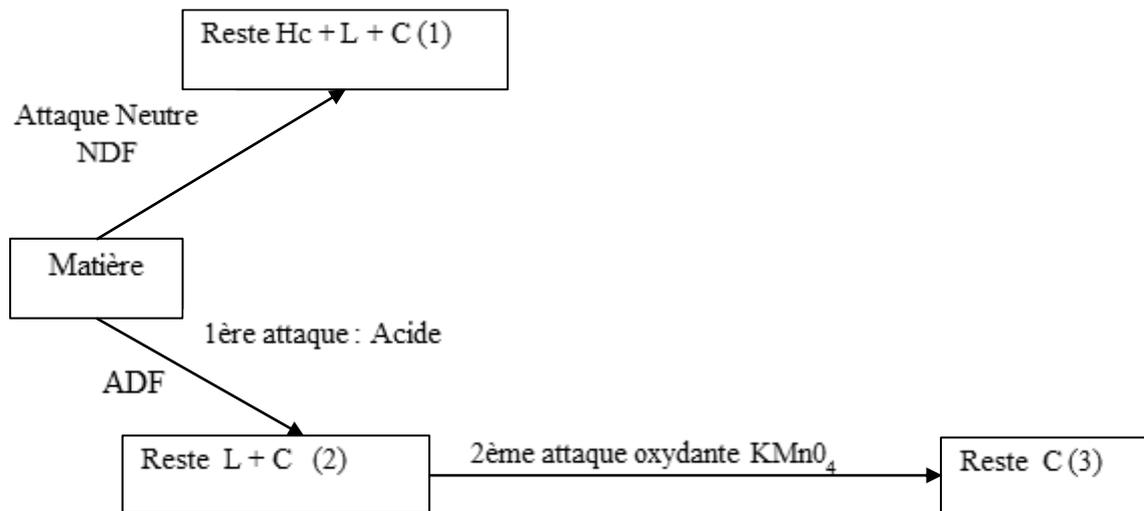
- A est l'absorbance
- $\varepsilon$  est le coefficient d'extinction molaire
- l est la longueur du trajet optique dans la solution traversée.
- C est la concentration molaire de la solution (en mol/L).

### II-3.6 Teneurs en cellulose, hémicellulose et lignine

Ce dosage a été effectué selon la méthode Van Soest et Wine (1967, 1968) encore appelée méthode ADF-NDF, basée sur la différence de solubilité des constituants dans deux types de détergents (Figure 16).

Le détergent neutre ou NDF (Neutral Detergent Fiber), à base d'éthylène diamine tétra- acétique de sodium (EDTA), solubilise l'ensemble des constituants non pariétaux (protéines, pectines). Le résidu insoluble **N** contient les hémicelluloses, les lignines et la cellulose. Le détergent acide ou ADF (Acid Detergent Fiber) à base de bromure d'hexadécyltriméthyl ammonium (CTAB) et d'acide sulfurique dilué, solubilise l'ensemble des composés non pariétaux et les hémicelluloses.

Le résidu insoluble **A** contient les lignines et la cellulose. L'attaque des lignines du résidu **A** par un oxydant puissant (permanganate de potassium) permet de récupérer un résidu **C** ne contenant dans sa fraction organique que de la cellulose. Après calcination des échantillons, les pourcentages massiques de la cellulose, de la lignine et de l'hémicellulose sont respectivement égaux à C, A-C et N-A.



**Figure 16:** Principe d'obtention des composés pariétaux

Dans ce protocole, deux types d'attaques sont menées : l'attaque à chaud et l'attaque à froid. Dans l'attaque à chaud (ADF ou NDF), la première étape est réalisée sur un dispositif de chauffage à reflux (Fibertec M2 de FOSS®).

A une masse d'un (1) g de matière végétale (lignocellulosique) finement broyée, sont ajoutés 100 mL de réactif ADF (20 g de bromure de cetyl triméthyl ammonium (CTAB) dans 1 L de solution d'acide sulfurique 1N) ou NDF (30 g de lauryl sulfate de sodium ; 18,61 g d'EDTA ; 4,56 g de phosphate disodique ; 6,81 g de borate de sodium décahydraté ; 10 mL d'éthylcellulose dans 1 L d'eau déminéralisée). L'ensemble est porté à reflux pendant 1 heure. La solution résultante est filtrée et la matière végétale est rincée abondamment à l'eau bouillante jusqu'à la disparition de la mousse. Le fritté est séché à l'étuve à 103°C pendant 12 h avant d'être pesé.

Pour l'attaque à froid, les frittés ayant subi une attaque au réactif ADF suivent le traitement suivant. Un volume de 25 mL de solution mixte, constituée d'un mélange d'une solution saturée de permanganate de potassium (50 g/L) et d'une solution tampon (2/1) (v/v), est introduit dans le fritté. La solution tampon est constituée de 6 g de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  ; 0,15 g d' $\text{AgNO}_3$  ; 100 mL d'eau déminéralisée ; 500 mL d'acide acétique glacial ; 5 g d'acétate de potassium et 400 mL de tert-butanol. L'attaque est réalisée sur une unité d'extraction à froid (Tecator Fibertec M1017 de Foss®) pendant 90 min sous agitation manuelle régulière et permet ainsi la solubilisation des lignines. La solution résultante est filtrée et la matière est rincée avec une solution déminéralisante (50 g d'acide oxalique dihydraté ; 700 mL d'éthanol à 95% ; 50 mL de solution d' $\text{HCl}$  12 N dans 250 mL d'eau déminéralisée) pendant au maximum 30 min jusqu'à ce que les fibres restantes deviennent blanches. Après filtration de la solution déminéralisante,

le résidu est lavé à l'éthanol à 80% puis à l'acétone avant d'être séché à l'étuve à 103°C. La pesée du résidu C correspond à la masse de cellulose de la matière végétale.

Après l'attaque par le réactif NDF et par la solution mixte, la matière minérale des échantillons est déterminée par pesée après calcination de la matière au four (550°C pendant 6h).

### II-3.7 Teneur en lipides spécifiques

La méthode utilisée pour la détermination a été l'extraction en continu par soxhlet avec de l'hexane selon la norme NF EN ISO 659 (1998).

Une masse de 15 g de chaque échantillon a été pesée sur une balance 10<sup>-4</sup> (KER ABJ 120-4NM) puis transférée dans une cartouche en cellulose (22 x 80) placée dans l'extracteur. Un volume de 120 mL d'hexane, contenue dans le ballon pesé à vide (m<sub>2</sub>) est utilisé pour l'extraction qui dure 7 h. L'extrait obtenu est évaporé à sec à l'aide d'un ratovapor (IKA RV 10) à 40°C et à la fin le ballon contenant les lipides est pesé (m<sub>3</sub>).

La teneur en lipides (T<sub>L</sub>) est déterminée selon la relation 9.

$$T_L = (m_3 - m_2) \times \frac{100}{m_1} \quad (9)$$

Dans cette relation :

m<sub>1</sub> représente la masse de l'échantillon (en g) ;

m<sub>2</sub> représente la masse du ballon vide (en g);

m<sub>3</sub> représente la masse du ballon contenant les lipides après évaporation (en g).

## II-4 Analyse des lipides spécifiques

### II-4.1 Analyse spectroscopie infrarouge

Les analyses IR ont été effectuées avec un spectromètre Perkin Elmer Spectrum BX FT-IR System. Les spectres sont collectés en positionnant les échantillons de bagasse de pomme de cajou entre deux lames de ZnSe. Les pastilles sont préalablement rincées avec du chloroforme, puis une goutte de l'échantillon est déposée entre deux pastilles de ZnSe et elles sont ensuite introduites dans la chambre optique pour analyse. L'échantillon est soumis à un rayonnement électromagnétique dans la gamme de longueurs d'onde du centre infrarouge (2,5 μm < λ < 50 μm). Le champ électrique induit par l'onde électromagnétique peut interagir avec un moment dipolaire d'une entité moléculaire présente dans le matériau.

## II-4.2 Chromatographie sur couche mince à haute performance

Avant la chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC), une Chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée selon la méthode (Spitzer, 1999) pour obtenir des informations préliminaires sur l'huile. Cette méthode a consisté à faire une CCM sur gel de silice avec un système de solvants hexane/diéthyle éther/acide acétique dans un rapport de 80/20/2 (v/v/v). La détection de chaque groupe lipidique peut être faite d'abord sous une lampe UV à 254 nm puis à l'aide d'une pulvérisation avec le mélange H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH (50%) et enfin à l'aide d'un chauffage à 100°C si nécessaire. Généralement, sept groupes environ sont observés. Ce sont les groupes des :

- alcanes/alcènes/squalène/stérolester/cireux (Rf = 98-94);
- triglycérides (Rf ≈ 60; dominante);
- acides gras libres (Rf = 39);
- stérols (Rf = 19);
- diglycérides (Rf = 15-21);
- monoglycérides (Rf ≈ 2);
- phospholipides (Rf ≈ 0)

Les analyses HPTLC ont été effectuées sur des plaques en verre de 20 cm x 10 cm revêtus de gel de silice 60 NH<sub>2</sub> F254 (Merck). Les plaques ont été préconditionnées par l'isopropanol en indiquant le sens de migration sur la plaque puis mis l'étuve à 120°C pendant 15 min.

Des solutions standards et les échantillons de lipide de bagasse de cajou sont préparés à une concentration d'environ 1 g/L avec de l'hexane. Elles ont été appliquées sur les plaques sous forme de bandes de 8 mm, à partir du bord inférieur et 15 mm à partir du bord gauche au moyen d'un applicateur automatique Linomat V (Camag, Muttenz, Suisse). Ce dernier est équipé d'une seringue de 100 µL (Hamilton, Bonaduz, Suisse) permettant de prélever 10 µL de chaque solution. Des chromatogrammes ont été développés en utilisant les systèmes de solvant hexane/diéthyle éther/acide acétique : 80 /20/1 (v/v/v) et hexane/chloroforme/méthanol : 6 /3/1 (v/v/v/v). Après la migration des échantillons sur les plaques, l'analyse quantitative a été réalisée par TLC Scanner 3 (Camag) en mode absorption/réflectance à 340 nm, en utilisant des dimensions de fente de 6 mm x 0,30 mm et une vitesse de balayage de 20 mm /s. Les plaques ont été plongées dans l'anisaldéhyde sulfurique (révélateur) et les taches ont été détectées par chauffage des plaques à 105-110°C pendant 5 min. Les plaques développées ont été ensuite

balayées à 550 nm de façon à enregistrer les zones de pic. Tous les instruments ont été exploités par le programme winCATS (version 1.4.8, Camag).

### II-4.3 Profil des acides gras

La composition en acide gras a été déterminée par analyse des esters méthyliques d'acide gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG) selon la norme NF EN ISO 5508 (1995).

Pour ce faire, une masse de 20 mg d'huile de bagasse de cajou est mélangée dans 1 mL de (tertio-butyl méthyl éther) TBME. Après agitation et filtration sur un filtre de porosité, 0,45 µm, 100 µL de la solution filtrée sont introduits dans un insert. Un volume de 50 µL d'hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH) 0,5 M dans le méthanol est ajouté pour les acides gras plus volatils. Ces derniers sont identifiés par comparaison de leurs chromatogrammes à ceux de témoins purs analysés dans les mêmes conditions. Le chromatographe utilisé est de type Varian, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) avec les conditions opératoires présentées dans le tableau 8.

Tableau 8: Conditions d'analyse des acides gras en CPG-FID

<b>Paramètres</b>	<b>Valeurs</b>
<b>Type de colonne</b>	colonne capillaire CP – select CB for FAME fused Silica WCOT (50 m x 0,25 mm x 0,25µm)
<b>Gaz vecteur</b>	Hélium (1mL/min)
<b>Température de l'injecteur</b>	250°C
<b>Quantité injectée</b>	1,0 µL
<b>Programmation de la température du four</b>	185°C (40 min) ; 15°C/min jusqu'à 250°C ; 250°C (10,68 min)
<b>Température du détecteur FID</b>	250°C
<b>Injecteur mode split</b>	1/100
<b>Durée d'analyse</b>	55 min

### II-4.4 Profil des glycérides

Le profil des triglycérides a été effectué selon la méthode de la norme NF EN ISO 17059 (2009) par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme.

Les composés ont été identifiés par comparaison des temps de rétention avec des standards de référence et la quantification a été réalisée par étalonnage interne. Pour cette analyse, les caractéristiques du chromatographe CPG (Perkin Elmer) sont consignées dans le tableau 9.

Tableau 9: Conditions d'analyse des glycérides en CPG-FID

<b>Paramètres</b>	<b>Valeurs</b>
<b>Type de colonne</b>	Rtx-5 (Restek) longueur 15m, diamètre interne 0,32 mm, épaisseur du film 0,25 µm
<b>Gaz vecteur</b>	Hélium à la pression de 15 psi en tête de colonne
<b>Température de l'injecteur</b>	55°C pendant 0,5 min, puis 200°C/min jusqu'à 340°C et maintenue à 340°C pendant 40 min
<b>Quantité injectée</b>	1,0 µL
<b>Programmation de la température du four</b>	55°C pendant 0,5 min puis 45°C/min jusqu'à 80°C enfin un gradient de 10°C/min jusqu'à 360°C pendant 16 min
<b>Température du détecteur FID</b>	365°C
<b>Injecteur mode split</b>	1/100
<b>Durée d'analyse</b>	55 minutes

#### II-4.5 Indice d'acide

L'indice d'acide a été effectué selon la méthode de la norme NF EN ISO 660 (2009). Le protocole de détermination de l'indice d'acide convient à des corps gras d'origine animale ou végétale. Il permet de déterminer ou de vérifier la présence de fonctions acides dans le corps gras. L'indice d'acide se détermine par un simple dosage acido-basique et s'exprime en mg KOH/g (mg de KOH nécessaires pour neutraliser les acides gras libres).

Une masse d'échantillons d'huile de bagasse (m) a été dissoute dans un bécher contenant 50 mL de propan-2-ol sous agitation et sous chauffage léger pour faciliter la solubilisation. Un volume de 25 mL d'éther anhydre et deux à trois gouttes de la solution de phénolphaléine sont successivement ajoutés. Le mélange obtenu a été dosé par une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 0,1 mol/L. Le dosage a été effectué trois fois. L'indice d'acide (mg KOH/g) est calculé à partir de la formule de la relation 10.

$$Ia = \frac{56,1 \times (V - V_0) \times c}{m} \quad (10)$$

Où :

- **c** est la concentration de la solution de KOH (mol/L) ;
- **V** est le volume de la solution de KOH à l'équivalence (mL) ;
- **V<sub>0</sub>** est le volume de la solution de KOH obtenu pour le blanc (mL) ;
- **m** est la masse exacte de l'échantillon (g) ;
- **56,1** est la masse molaire de l'hydroxyde de potassium (g/mol).

#### II-4.6 Indice d'iode

L'indice d'acide a été effectué selon la méthode de la norme ISO 3961 (2013). Dans un erlenmeyer, 0,5 g d'huile de bagasse a été dissoute dans 15 mL de chloroforme sous agitation. Un volume 20 mL du réactif de Wijs est ajouté et l'erlenmeyer est bouché et recouvert de papier aluminium afin de mettre l'essai au noir. L'ensemble est agité pendant 1 h et 10 mL de la solution de KI à 10% et 150 mL d'eau distillée sont ajoutés. L'essai est dosé par une solution thiosulfate de sodium à 0,1 N. Lorsque la couleur devient jaune clair, quelques gouttes d'empois d'amidon (indicateur coloré) sont ajoutées. La solution noir résultante est titrée jusqu'à décoloration totale. Les analyses sont répétées trois fois et l'indice d'iode (g d'iode/100 g) est calculé selon la formule de la relation (11)

$$I_i = \frac{12,69 \times C \times (V_0 - V_{\text{éq}})}{m} \quad (11)$$

Où :

- **12,69** est la masse molaire de l'iode en g/mol ;
- **C** est la concentration du thiosulfate de sodium (mol/L) ;
- **V<sub>0</sub>** est le volume équivalent de l'essai à blanc (mL) ;
- **V<sub>éq</sub>** est le volume équivalent de l'essai avec échantillon (mL) ;
- **m** est la masse de l'échantillon (g).

L'indice d'iode s'exprime en gi/100g d'échantillon

### II-4.7 Indice de saponification

L'indice de saponification a été déterminé selon la norme ISO 3657 (1988). A 2 g d'échantillon d'huile de bagasse dans une fiole conique sont ajoutés 25 mL d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à 0,5 N et quelques régulateurs d'ébullition. L'ensemble est porté à ébullition légère en agitant sous intermittence, pendant 60 min, sauf pour les corps gras à point de fusion élevé, où le temps d'ébullition doit être de 2 h. A la solution chaude, sont ajoutées quelques gouttes de la solution éthanolique de phénolphtaléine et l'ensemble est titré par une solution d'acide chlorhydrique 0,5 mol/L jusqu'à ce que la couleur rose de l'indicateur disparaisse. Si la solution est fortement colorée, il est nécessaire d'utiliser 0,5 à 1 mL de solution de bleu alcalin. Un essai à blanc est réalisé en suivant le même mode opératoire, mais en omettant la prise d'essai. Les analyses sont répétées trois fois et l'indice de saponification (g/mol de KOH) est calculé selon la formule de la relation (12)

$$I_s = \frac{56,1 * C * (V_0 - V)}{m} \quad (12)$$

Avec :

- **I<sub>s</sub>** l'indice de saponification ;
- **V<sub>0</sub>** le volume en mL de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai à blanc;
- **V le volume** en mL de solution d'acide chlorhydrique utilisée pour la prise d'essai;
- **C la** concentration en mol/L de solution d'acide chlorhydrique utilisée;
- **m** la masse en g de la prise d'essai ;
- **56,1** la masse molaire en g/mol de KOH.

### II-4.8 Dosage des carotènes totaux

La spectroscopie ultraviolette-visible à 446 nm à été utilisée pour le dosage des caroténoïdes totaux selon la norme française NF EN ISO 17932. Une masse de 0,1 g d'huile de bagasse est dissoute dans de l'isooctane dans une fiole de 25 mL. Deux cuves en quartz sont utilisées dont la première contenant la solution d'essai (le mélange) et la seconde cuve d'isooctane. La mesure de l'absorbance est effectuée par rapport à l'isooctane au spectromètre à 446 nm. Les valeurs d'absorbance doivent être comprise entre 0,2 et 0,8 dans le cas contraire il

faut diluer le mélange. La teneur en carotène total,  $w_c$ , de l'huile est sous forme de  $\beta$ -carotène, en milligrammes par kilogramme, à l'aide de la relation (13).

$$W_c = \frac{383 \Delta A}{l \rho} \quad (13)$$

Avec :

- **383** le coefficient d'extinction molaire du  $\beta$ -carotène dans l'isooctane de la solution, à 446 nm;
- $\Delta A$  est la différence d'absorption,  $A$ , observée entre la solution échantillon et l'isooctane ;
- $l$  est le trajet optique de la cuve quartz, en centimètres;
- $\rho$  est la concentration, en grammes par 100 ml, de la solution échantillon

#### II-4.9 Dosage des tocophérols

La méthode utilisée pour ce dosage des tocophérols est celle décrite par la norme ISO 9936 (2016). La teneur en  $\alpha$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  tocophérols est déterminée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

Une gamme de solutions étalons a été utilisée pour réaliser un étalonnage externe basé sur l'aire des pics. Des solutions mères de 0,1 mg/mL ont été préparées puis quantifiées par spectrométrie UV-Visible à 292 nm pour l' $\alpha$ -tocophérol, et à 298 nm pour les  $\gamma$ - et  $\delta$ -tocophérols. Des solutions filles de 5 ; 10 ; 20 ; 30 et 50  $\mu$ g/mL sont préparés à partir des solutions mères et injectés individuellement sur un chromatographe HPLC de type Dionex RF 2000 équipée d'une pompe isocratique P 680.

Pour chaque échantillon à doser, une solution de 10 mg d'huile/mL de cyclohexane a été préparée. Les teneurs en tocophérols sont exprimées mg/100g huile et toutes les analyses ont été tripliquées. Les conditions opératoires sont présentées dans le tableau 10.

Tableau 10: Conditions d'analyse des tocophérols en HPLC

Paramètres	Valeurs
Type de colonne	colonne : Kromasil 100 SIL (5 $\mu$ m 250 x 4 mm)
Quantité injectée	1,0 $\mu$ L
Solvant d'élution	Isooctane/isopropanol 99,5 /0,5 (v/v)
Débit	1 mL/min

<b>Détecteur fluorimètre</b>	$\lambda_{\text{ex.}}$ (excitation) 290 nm ; $\lambda_{\text{em.}}$ (émission) 330 nm
<b>Durée d'analyse</b>	30 min

#### II-4.10 Dosage des phytostérols

Les phytostérols contenus dans la fraction insaponifiable de l'huile sont extraits par saponification avec ajout d'eau puis d'isohexane qui crée un mélange biphasique. La phase supérieure de ce mélange contient la fraction insaponifiable, dont les stérols, alors que la phase inférieure aqueuse renferme des sels solubles (savons) contenant les acides gras.

Pour ce faire, la saponification a consisté à dissoudre 50  $\mu\text{L}$  de cholestanol dans le chloroforme. Après évaporation de ce dernier, 20 mg de chaque échantillon ont été prélevés et ajoutés au cholestanol. Ensuite 2 mL de la solution de KOH à 1M dans l'éthanol ont été ajoutés à chaque échantillon et l'ensemble a été agité au vortex et porté à 75°C dans un bain pendant 30 min. Après refroidissement à température ambiante (20°C et 25°C) les échantillons sont refroidis, 1 mL d'eau distillée a été ajouté suivi d'une agitation au vortex puis 6 mL d'isohexane ont été ajoutés suivie d'une nouvelle agitation. Une décantation permet la séparation des phases et la récupération de la phase hexanique qui va être analysée.

Tout comme les acides gras, l'analyse des phytostérols par chromatographie en phase gazeuse nécessite une silylation. A 160  $\mu\text{L}$  de la phase hexanique filtrée ont été ajoutés 40  $\mu\text{L}$  de réactif de silylation (1 mL de MSHFBA + 50  $\mu\text{L}$  de méthyl imidazole). Le mélange est chauffé pendant 2 minutes à l'étuve à 103°C avant l'analyse par CPG au perkin Elmer. Les conditions opératoires sont présentées dans le tableau 11.

Tableau 11: Conditions d'analyse des stérols en CPG-FID

<b>Paramètres</b>	<b>Valeurs</b>
<b>Type de colonne</b>	Colonne capillaire CPSil 8CB : 30 m x 0,25 mm x 0,25 $\mu\text{m}$
<b>Gaz vecteur</b>	Hélium (1mL/min)
<b>Température de l'injecteur</b>	340°C
<b>Quantité injectée</b>	1,0 $\mu\text{L}$
<b>Programmation Température de l'injecteur</b>	55°C (0,5 min); 200°C/min jusqu'à 340°C et 340°C (30 min)

---

<b>Programmation de la température du four</b>	160°C (0,5 min); 20°C/min jusqu'à 260°C (5,5 min); 2°C/min jusqu'à 300°C (10 min) ; 45°C/min jusqu'à 350°C (3 min)
<b>Température du détecteur FID</b>	365°C
<b>Injecteur mode split</b>	1/10
<b>Durée d'analyse</b>	40 min

---

### II-5 Microscopie électronique à balayage

Des images Cryo-SEM ont été réalisées avec un microscope FEG FEI Quanta 250 (Société FEI, Eindhoven, Hollande) pour l'identification sphysique et morphologique des cires. La peau de pomme a été déposée sur un morceau fixé avec un support de graphite colloïdal Tissue-Tek. Ensuite, l'échantillon a été congelé dans une bouillie d'azote à -220°C. L'échantillon congelé a été transféré sous vide à l'appareil cryocaméra (Quorum PP3000T Cryo Transfer System) à -140 ° C. La température a ensuite été augmentée à -95°C et maintenue à cette température pendant 1 heure pour la sublimation. L'échantillon a ensuite été métallisé avec du plomb (60 s, 10 mA) et introduit dans la chambre de microscope où il a été maintenu à -140°C pendant l'observation, fonctionnant à une tension d'accélération de 5 kV.

### **III- AGRO-FORMULATION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU**

#### **III-1 Hypothèses, objectifs et originalité**

##### **Hypothèses**

La bagasse de la pomme de cajou peut servir à la fabrication de certains agromatériaux. Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à la possibilité de concevoir un agromatériau fait uniquement de bagasse de la pomme de cajou.

##### **Objectif général**

L'objectif général de cette étude est la valorisation de la bagasse de pomme cajou dans le domaine des agromatériaux

Les objectifs spécifiques sont :

- déterminer certaines caractéristiques de la bagasse de pomme de cajou par l'analyse calorimétrique et l'analyse thermogravimétrique ;
- déterminer le meilleur couple des facteurs température-pression pour la réalisation d'un agromatériau, en utilisant des plans d'expérience de degré deux (surface de réponse) qui porteront sur les tests d'immersion et de flexion ;
- fabriquer un agromatériau en confirmation des résultats de désirabilité obtenus, de faire un test microbiologique et de concevoir des formes selon les besoins d'utilisation.

##### **Originalité**

Cette partie décrit l'utilisation de la bagasse de la pomme de cajou pour élaborer des agromatériaux par une technique de thermopressage. Cette étude pourrait bien être la première dans la recherche scientifique à notre connaissance.

#### **III-2 Préparation de l'échantillon**

Le matériel végétal est identique à celui du chapitre II au paragraphe II-2, il s'agit de la poudre de la bagasse de pomme cajou sans séparation de la pulpe et de la peau de pomme.

### **III-3 Analyse calorimétrique à balayage différentiel**

Les transitions thermiques des matériaux élaborés dans ce travail ont été mesurées en calorimétrie à balayage différentiel. L'appareillage utilisé a été un calorimètre PERKIN ELMER Pyris 1.

Les essais ont été réalisés sous un flux d'azote (20 mL/min), dans des creusets en aluminium ouverts, pour un intervalle de températures de 50 à 250°C et à une vitesse de 10°C.min<sup>-1</sup>. La température de transition vitreuse des matériaux a été la principale transition recherchée. Elle a été déterminée par la méthode des tangentes. Le logiciel Pyris permet de traiter les thermogrammes et d'intégrer les pics, afin de déterminer les températures de dénaturation et les énergies nécessaires à cette transformation.

### **III-4 Analyse thermogravimétrique**

Les analyses thermogravimétriques (ATG) ont été réalisées à l'aide d'un appareil TGA/DTA (Thermogravimetric Analysis - Differential Thermal Analysis) PERKIN ELMER Diamond sous flux d'air (100 mL/min) pour un intervalle de températures compris entre 25 et 500°C et à une vitesse de 10°C/min. Les creusets utilisés sont en aluminium. Ces analyses ont permis de mesurer la température de dégradation thermique des matériaux. Elle correspond au début de la dégradation (onset) et a été définie comme la valeur de la température à l'intersection des tangentes.

### **III-5 Thermopressage**

Des plaques ont été réalisées en thermopresse par une presse hydraulique MAPA50 (Pinette Emidecau Industries, France). Les essais sont menés sur une presse à plateaux chauffants équipée d'un moule permettant d'obtenir une plaque de dimension (50×50×7,5 mm). Le moule, chauffé à la température choisie, est garni annuellement de façon uniforme et fermé. Cette opération technologique s'effectue en plusieurs étapes qui sont : la mise en température du moule par conduction des plaques de la thermopresse au moule, le remplissage du moule la fermeture du moule, le maintien (5 min à 100 bars), la détente, l'ouverture du moule et le démoulage.

La masse de 25 g de bagasse de pomme de cajou a été déposée dans le moule pour chaque opération et les vitesses de montée en pression (10 bars.s<sup>-1</sup>) et de détente (1 bar.s<sup>-1</sup>) ont été déterminées expérimentalement de façon à obtenir des plaques reproductibles. Ces derniers ont été refroidis et conditionnés dans une enceinte climatique 60% d'humidité relative (HR) à 25°C jusqu'à l'équilibre avant d'être caractérisées (10 jours).

Pour cette étude de l'influence de deux facteurs (la température et de la pression à appliquer) a été réalisée à l'aide d'un plan d'expériences (surface de réponses). Le plan utilisé est celui de Doehlert à deux facteurs présentés dans le tableau 12 Tableau 12.

Tableau 12: Matrice d'expériences de Doehlert à deux facteurs et paramètres de référence

<b>Ordre</b>	<b>Température (°C)</b>	<b>Pression (bar)</b>		<b>Températures (°C)</b>	<b>Pressions (bar)</b>
1	140	100		<b>min</b>	100 80
2	180	100		<b>max</b>	180 120
3	160	120		<b>centre</b>	140 100
4	120	120		<b>pas</b>	40 23,0946
5	100	100			
6	120	80			
7	160	80			
8	140	100			

### III-6 Test d'immersion

Le protocole utilisé est très proche de celui de la norme NF EN 317 sur la détermination du gonflement en épaisseur après immersion dans l'eau pour les panneaux de particules et les panneaux de fibres. Le test est réalisé dans un récipient rempli d'eau déminéralisée, muni d'une grille sur laquelle sont déposés les échantillons. La température du bain se situe entre 17 et 20°C. Les durées des tests sont de 10 ; 30 ; 45 ; 90 et 240 min. Les échantillons sont insérés dans une enceinte climatique (25°C, 60% d'humidité relative). A la fin de chaque temps, l'échantillon est sorti du bain et posé sur une grille pour essorage. Après l'essorage, les dimensions et les masses avant et après immersion permettent de calculer leurs variations respectives à l'aide d'une pierre à coulisse digitale numérique électronique (Delecast DANIU 150 mm) et d'une balance à 10<sup>-4</sup> g (Sartorius AX224).

### III-7 Essai de flexion

Avant la caractérisation, les éprouvettes ont été placées pendant 10 jours dans une enceinte climatique (60% HR, 25°C). La méthode utilisée est celle de à la norme ISO 178 (détermination des propriétés en flexion des plastiques).

Le banc d'essai est alors équipé d'un module de flexion à trois-points et d'une cellule de force 500 N. L'écartement entre les deux points d'appui de l'éprouvette est de 40 mm. Le point de compression est équidistant de ces deux points d'appui. Le module de compression s'appuie

à une vitesse de 5 mm/min sur l'éprouvette. Le logiciel Q.MAT 4,53 calcule le module d'élasticité et la contrainte à la rupture en flexion respectivement selon les équations des relations 14 et 15

$$\sigma_f = \frac{3 \times L}{2 \times b \times e^2} \times F \quad (14)$$

- F force de la charge à la rupture ;
- L la distance entre les points d'appui ;
- b largeur de l'éprouvette barre de flexion ;
- e l'épaisseur de l'éprouvette barre de flexion.

$$E_f = \frac{L^3}{4 \times b \times e^3} \times \frac{F_2 - F_1}{a_1 - a_2} \quad (15)$$

$F_i$  la force mesurée pour une déformation  $a_i$

### III-8 Analyse microbiologique

Un test microbiologique a été réalisé avec le germe *Aspergillus Niger* sur les pommes de cajou et les plaques obtenues par thermopressage. Ce germe a étéensemencé sur des pommes de cajous frais et après leur croissance, le germe a été repiqué sur les plaques de bagasse élaborées.

**Troisième Partie :**

**RESULTATS ET  
DISCUSSION**

## **Chapitre I : ACIDE CITRIQUE**

### **I- CRIBLAGE**

#### **I-1 Déchets de fruit sucré**

La production d'acide citrique à partir des échantillons de déchets de fruits sucrés est présentée dans le tableau 13 où cette production peut être comparée au taux de consommation de sucre total.

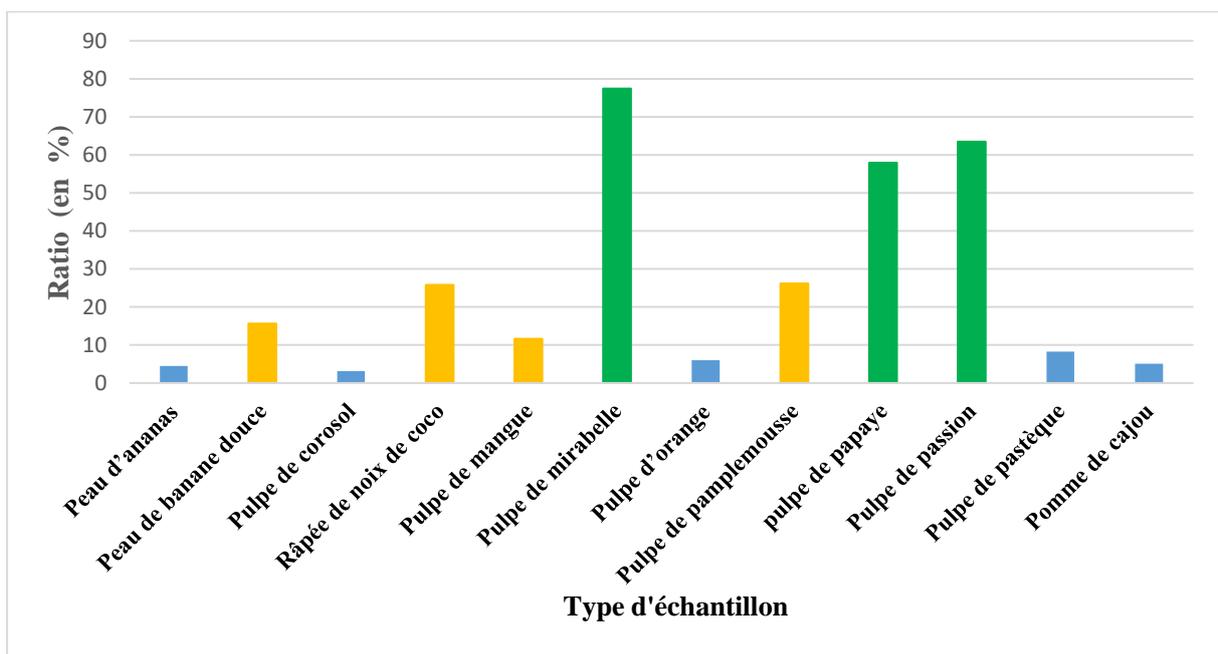
*Tableau 13: Teneurs en sucres totaux (g/kg) des déchets de fruits sucrés et production d'acide citrique (g/kg) correspondante en fermentation en milieu solide avec *Aspergillus niger**

<b>Echantillons</b>	<b>Sucres totaux avant fermentation (g/kg)</b>	<b>Sucres totaux après fermentation (g/kg)</b>	<b>Production d'acide citrique (g/kg)</b>	<b>Production d'acide citrique /sucres totaux consommés</b>
<b>Peau d'ananas</b>	221,7	70,0	6,8	0,04
<b>Peau de banane douce</b>	366,2	136,3	36,0	0,16
<b>Pulpe de corossol</b>	450,0	26,9	13,2	0,03
<b>Râpée de noix de coco</b>	73,3	19,2	14,0	0,26
<b>Pulpe de mangue</b>	478,3	370,2	12,6	0,12
<b>Pulpe de mirabelle</b>	188,3	108,8	61,6	0,77
<b>Pulpe d'orange</b>	228,3	46,8	11,0	0,06
<b>Pulpe de pamplemousse</b>	240,0	150,2	23,5	0,26
<b>Pulpe de papaye</b>	440,0	314,8	72,5	0,58
<b>Pulpe de passion</b>	383,3	239,5	91,3	0,63
<b>Pulpe de pastèque</b>	203,3	11,6	15,9	0,08
<b>Pomme de cajou</b>	346,7	78,6	13,6	0,05

Selon les résultats du tableau, les déchets de fruits sucrés ne présentent pas les mêmes variations lors de la production d'acide citrique.

Après fermentation, la peau d'ananas présente la plus faible teneur en acide citrique (6,8 g/kg) et la pulpe de fruit de passion donne la plus grande teneur (91,3 g/kg). En rapportant la quantité d'acide citrique produit sur la quantité de sucres consommées (Figure 17), la pulpe de papaye, la pulpe du fruit de la passion et la pulpe de mirabelle (en vert sur la Figure 17) se

démarquent pour leur haut rendement avec des rapports respectifs de 0,58 ; 0,63 et 0,77 g d'acide citrique par g de sucre. Leurs productions par rapport à la masse de substrat sont de 72,5 ; 91,3 et 61,6 g d'acide citrique/kg. Ces valeurs sont supérieures à celles publiées par d'autres auteurs sur des substrats similaires (Afifi, 2011; Kareem *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2010; Bezalwar *et al.*, 2013) qui sont respectivement de 32,7 g/kg pour des déchets industriels de pomme de terre, de 60,6 g/kg pour des déchets d'ananas enrichis de 15% (p/v) saccharose, de 46 g/kg pour des déchets de pomme et enfin 3,75 g/kg pour de la pulpe de papaye. La figure 17 présente le ratio de production d'acide citrique sur la quantité de sucres consommée pour les différents substrats sucrés sélectionnés.



**Figure 17:** Ratio de production d'acide citrique sur la quantité de sucres consommée pour les différents substrats sucrés sélectionnés.

Des trois substrats de fruits (papaye, passion et mirabelle) à belle perspective de production d'acide citrique, seule la papaye pose un véritable problème de valorisation urgente en Côte d'Ivoire. En effet, les deux autres sont utilisés quasiment en totalité et leur production nationale est très faible par rapport à celle de la papaye, qui périclète rapidement à maturité. En Côte d'Ivoire, pays producteur et exportateur de papayes, les fruits hors circuit commerciaux posent un véritable problème de valorisation. Ainsi, la pulpe de papaye peut être retenue pour la suite de cette étude de valorisation.

En outre, la pulpe de mangue, la pulpe de pamplemousse, la râpée de noix de coco et la peau de banane douce présentent une perspective moyenne de production d'acide citrique. Le rapport de rendement est inférieur à 30 % et supérieur à 10 % (en orange sur la Figure 17). Cependant la pulpe de mangue peut-être avantageusement valorisée, car la mangue fibreuse utilisée dans ce travail n'est pratiquement pas valorisée. Elle est peu appréciée pour sa consommation directe en raison des fibres et de son petit calibre, comparée aux autres variétés de mangue plus grosses et plus juteuses.

La peau d'ananas, la pulpe de corossol, la pulpe d'orange, la pulpe de pastèque et la pomme de cajou présentent de faibles perspectives avec un rapport d'acide citrique sur la quantité de sucres consommés inférieur à 10 % (en bleu sur figure 17). Pourtant, la Côte d'Ivoire est le premier pays producteur et exportateur de noix de cajou. Hormis la noix qui est exportée, la pomme est abandonnée dans les champs et cette étude pourrait conduire à une voie de valorisation.

En somme, pour les déchets de fruits sucrés, la pomme de cajou (tourteau et bagasse), la mangue de petit calibre et la papaye hors circuit commercial ont été sélectionnées parmi les trois groupes pour la production d'acide citrique.

### I-2 Déchets amylacés

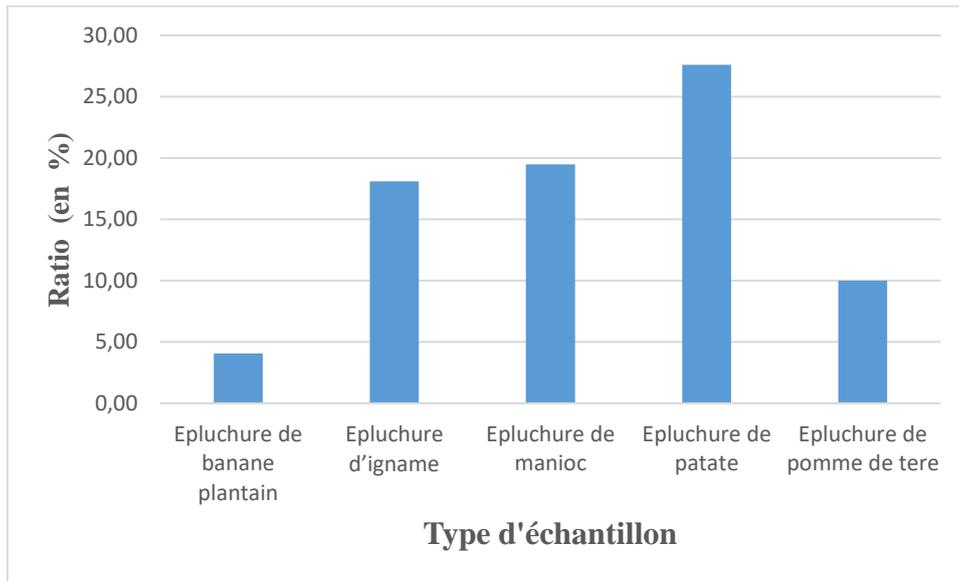
La production d'acide citrique à partir d'échantillons de déchets amylacés est présentée dans le tableau 14.

Tableau 14: Teneurs en acide citrique (g/kg) et en sucres totaux (g/kg) des déchets amylacés

Echantillons	Sucres totaux avant fermentation (g/kg)	Sucres totaux après fermentation (g/kg)	Production d'acide citrique (g/kg)	Production d'acide citrique /sucres totaux consommés
<b>Epluchure de banane plantain</b>	243,3	127,4	4,7	0,04
<b>Epluchure d'igname</b>	60,0	13,5	8,4	0,18
<b>Epluchure de manioc</b>	56,7	14,4	8,2	0,19
<b>Epluchure de patate</b>	121,7	61,2	16,7	0,28
<b>Epluchure de pomme de terre</b>	88,3	22,1	6,6	0,10

La patate présente, de loin, la meilleure production parmi ces déchets amylacés avec 16,7 g/kg d'acide citrique. La banane plantain hors circuit commercial, *a contrario*, présente la plus faible production d'acide citrique, que ce soit exprimé par masse de substrat (4,7 g/kg) ou par masse

de sucres consommés (40 %) (figure 18). Les épluchures d'ignames et de maniocs présentent sensiblement les mêmes résultats. La Côte d'Ivoire est un grand pays producteur et consommateur d'igname et de manioc. Les déchets de ces dernières sont très répandus sur tout le territoire ivoirien. Cependant, seules l'igname et la patate seront étudiées dans la suite de notre travail, le manioc ayant déjà fait l'objet de quelques travaux (Porto de Souza, 2000).



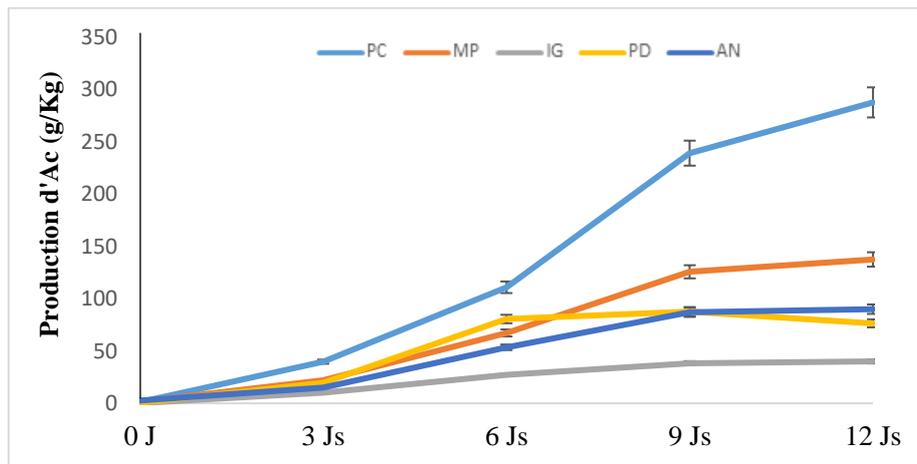
**Figure 18:** Ratio de production d'acide citrique sur la quantité de sucres consommée pour les différents substrats amylicés sélectionnés

En comparant les résultats des Tableau 14 et 14, on remarque que de façon générale, les fruits produisent plus d'acide citrique que les amylicés. Ce qui pourrait justifier les nombreuses utilisations des fruits dans la littérature pour la production d'acide citrique au détriment des amylicés.

## II- PRODUCTION D'ACIDE CITRIQUE

### II-1 Variation de la teneur en acide citrique

La variation de la teneur en acide citrique pour les divers échantillons au cours de la fermentation est présentée dans la figure 19 tracée à partir des données brutes du tableau A2 donné en annexe.



**Figure 19 :** Variation de la concentration en acide citrique durant la fermentation.

PC : déchet de papaye ; MP : déchets de mangue ; IG : épluchure d'igname ; PD : déchets de la patate douce et AN : déchet de la pomme de cajou. 9<sup>ème</sup>

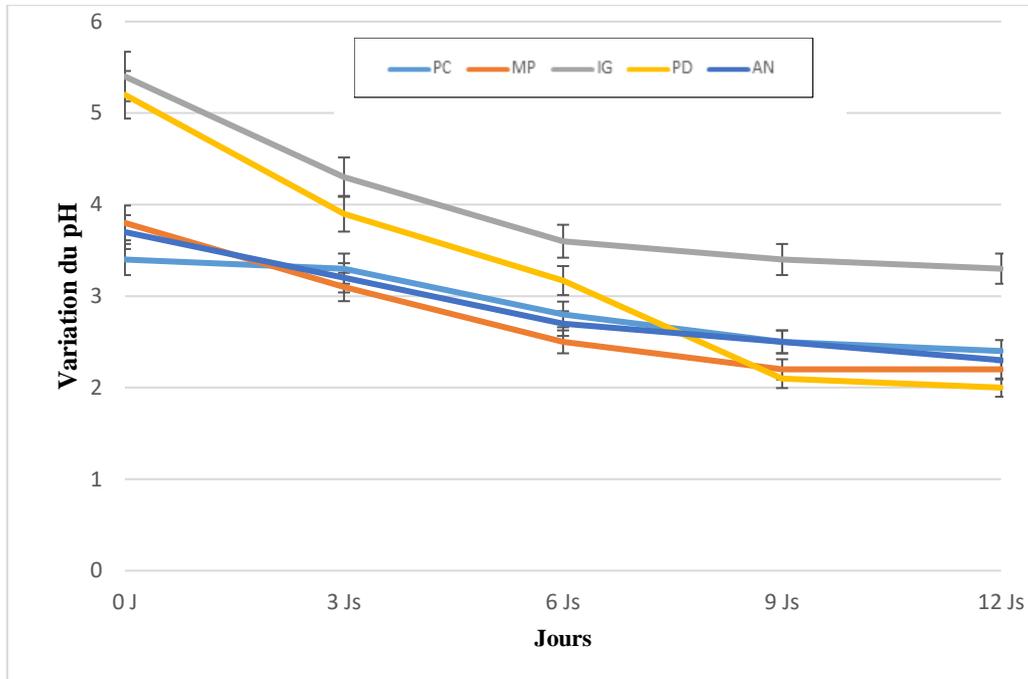
Les courbes de la figure 19 montrent que la production d'acide citrique augmente avec le temps. De façon générale, la production d'acide citrique est faible les trois premiers jours. Elle augmente jusqu'au 9<sup>ème</sup> avant d'attendre un plateau jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour pour MP, IG et AN ; une augmentation pour le PC et une diminution pour le PD.

Les déchets de papaye (PC) produisent la plus grande quantité d'acide citrique au 12<sup>ème</sup> jour alors que les épluchures d'igname (IG) produisent la plus faible quantité d'acide citrique durant cette même période.

Les concentrations initiales en acide citrique dans les différents substrats au jour zéro étaient inférieures à 3 g/kg d'acide citrique. A la fin de la fermentation, les échantillons ont enregistré une augmentation de leurs concentrations en acide citrique. La plus importante production a été enregistrée avec la papaye (287,7 g/kg) pour les déchets de fruit sucrés et la patate (87,7 g/kg) pour les déchets amylacés. Excepté la pomme de cajou, les résultats des déchets de fruits sucrés sont relativement les mêmes que ceux des épluchures de kiwi 100 g/kg (Hang *et al.*, 1987), des résidus de raisin 413 g/kg (Hang et Woodams, 1985) et les déchets fruits de pomme 127,9 g/kg (Dhillon, 2012). Cependant, les concentrations d'acide citrique obtenues à partir des déchets amylacés se rapprochent de celles obtenues avec les substrats tels que des taros (66 g/kg) (Lu *et al.*, 1995).

## II-2 Variation du potentiel hydrogène du milieu durant la fermentation

La variation du potentiel hydrogène du milieu durant la fermentation est présentée dans la figure 20 tracé à partir des données brutes du tableau A3 qui se trouve dans les annexes.



**Figure 20** Variation du pH durant la fermentation.

PC : déchet de papaye ; MP : déchets de mangue ; IG : épluchure d'igname ; PD : déchet de la patate douce et AN : déchet de la pomme de cajou

Après 12 jours de fermentation, il y a une baisse considérable des valeurs de pH. Le milieu de fermentation de la patate enregistre la plus grande baisse de pH allant de 5,2 à 2 et la plus faible baisse est obtenue avec la papaye passant de 3,4 à 2,4. Ces variations de pH rejoignent les travaux de (Dhillon *et al.*, 2011; Grewal et Kalra, 1995; Show *et al.*, 2015). En effet, ces auteurs indiquent que les sucres contenus dans les différents substrats sont utilisés comme source de carbone par *Aspergillus niger* qui transforme progressivement ces sucres en acide citrique. Une fois produit, ce composé acidifie le milieu d'où la baisse progressive du pH. Il faut souligner que les champignons filamenteux peuvent croître sur une large gamme de pH allant de 2 à 9, avec une gamme optimale entre 3,8 et 6,0 (Rimbault, 1998). Ces milieux de fermentations se trouvent donc dans la gamme optimale de pH pour la croissance du champignon *Aspergillus niger*.

### II-3 Variation des teneurs en minéraux pendant la fermentation

L'étude de la variation des teneurs en minéraux a été réalisée simultanément avec celles du potentiel hydrogène (pH) et de la concentration en acide citrique sur les 12 jours. Cependant seuls les résultats du 6<sup>ème</sup> jour et du 12<sup>ème</sup> jour de fermentation seront présentés dans la suite de l'étude (tableau 15 et 16).

Pour une bonne appréciation des rôles joués par ces minéraux (inhibiteurs ou inducteurs), une classification ascendante hiérarchique (CAH) a été utilisée avec le logiciel XLSTAT 2016.

Tableau 15: Concentration des minéraux libérés dans le milieu de fermentation au 6<sup>ème</sup> jour

	<b>PC</b>	<b>MP</b>	<b>IG</b>	<b>PD</b>	<b>AN</b>
<b>Conc AC</b>	110,95	67,3	27,3	80,6	53,56
<b>pH</b>	2,8	2,5	3,6	3,17	2,7
<b>Pb</b>	0	0	0	0	0,67
<b>Cd</b>	0	0	0	0	3,12
<b>Fe</b>	0,25	0,26	18,23	0,23	13,33
<b>Cu</b>	10,5	7,83	7,67	14,33	12,5
<b>Zn</b>	21,83	52,5	15,01	8,83	10,17
<b>Mn</b>	30,67	19,67	12,17	5,5	13,60
<b>Mg</b>	157,5	71,5	211,24	194,17	113,16
<b>Na</b>	134,17	46,17	106,33	210,83	101,52
<b>P</b>	133,33	83,33	283,33	183,33	150,14
<b>K</b>	5 047,67	2 655,83	7 814,33	3 926,83	3 014,33

PC : déchet de papaye ; MP : déchets de mangue ; IG : épluchure d'igname ; PD : déchet de la patate douce et AN : déchet de la pomme de cajou

Tableau 16: Concentration des minéraux libérés dans le milieu des fermentations au 12<sup>ème</sup> jour

	<b>PC</b>	<b>MP</b>	<b>IG</b>	<b>PD</b>	<b>AN</b>
<b>Conc 12js (g/kg)</b>	287,7	137,5	40,1	76,4	90,0
<b>pH</b>	2,4	2,2	3,3	2	2,3
<b>Pb (mg/kg)</b>	0	0	0,17	0,12	0,38
<b>Cd (mg/kg)</b>	0	0	0,02	0,07	0,01
<b>Fe (mg/kg)</b>	53,50	54,50	77,17	42,0	48,0
<b>Cu (mg/kg)</b>	3,45	1,5	8,67	3,67	2,83
<b>Zn (mg/kg)</b>	97,17	90,83	0,01	0,01	39,67
<b>Mn (mg/kg)</b>	59,83	2,37	1,56	42,17	49,23
<b>Mg (mg/kg)</b>	1 123,16	798,83	173,5	268,83	1065,5
<b>Na (mg/kg)</b>	546,67	292,83	286,67	397,5	234,67
<b>P (mg/kg)</b>	1 883,33	816,67	566,67	500,68	686,67
<b>K (mg/kg)</b>	28 370,36	29 978,33	5 070,14	4 861,67	24 911,67

*PC : déchet de papaye ; MP : déchets de mangue ; IG : épluchure d'igname ; PD : déchet de la patate douce et AN : déchet de la pomme de cajou*

### II-3.1 Classification ascendante hiérarchique

Le nombre de classes de cette classification est de trois. La figure 21 présente les dendrogrammes de cette classification et le tableau 17 et 18 des barycentres des classes.

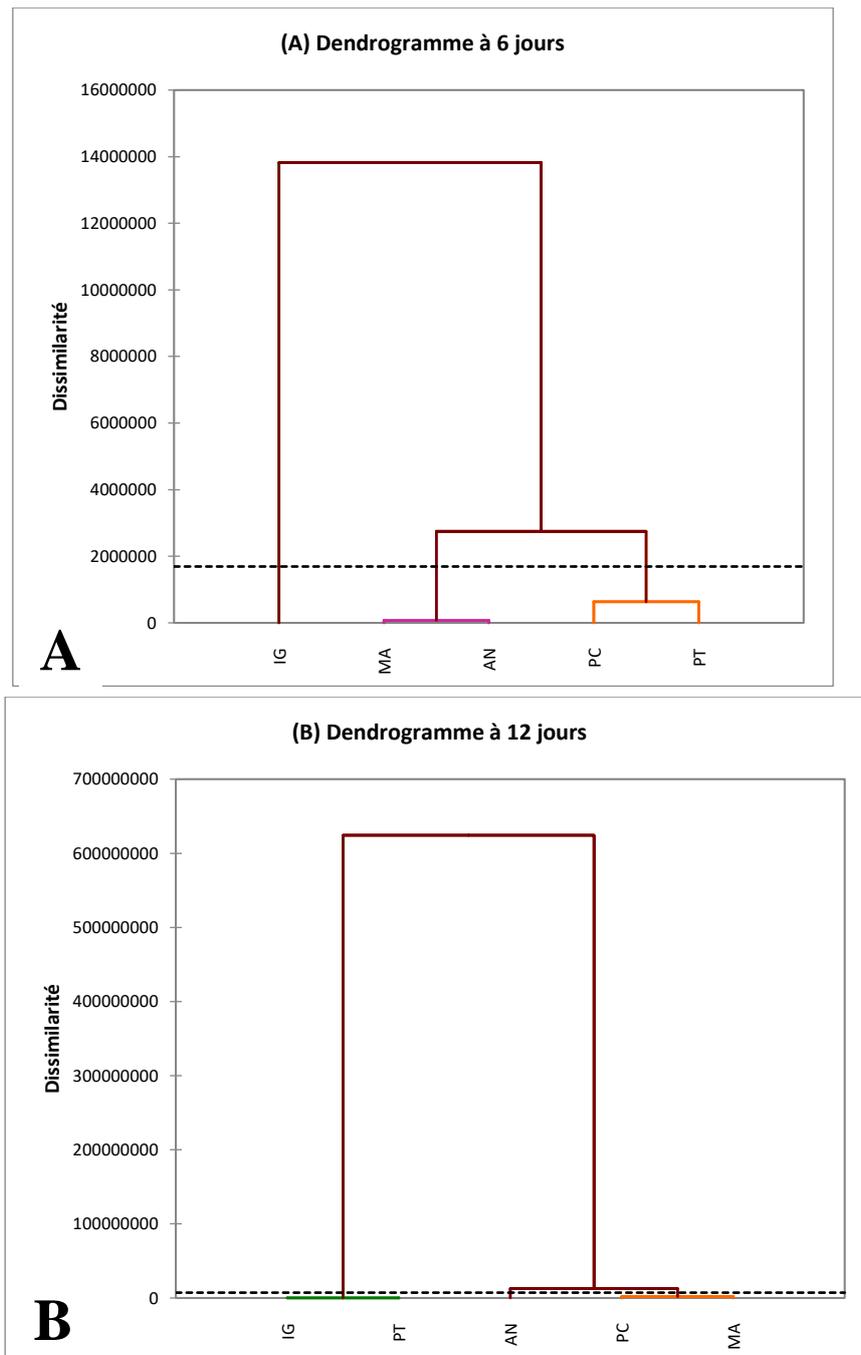


Figure 21 : Dendrogramme de la CAH de la fermentation de l'AC 6ème (A) et 12ème jour (B)

Tableau 17: Barycentre de la CAH au 6<sup>ème</sup> jour de fermentation

Classe	1 (PC, PD)	2 (MA, AN)	3(IG)
<b>Conc 6js (g/kg)</b>	95,8	60,4	27,3
<b>pH</b>	3,0	2,6	3,6
<b>Pb (mg/kg)</b>	0,0	0,3	0,0
<b>Cd (mg/kg)</b>	0,0	1,6	0,0
<b>Fe (mg/kg)</b>	0,2	6,8	18,2
<b>Cu (mg/kg)</b>	12,4	10,2	7,7
<b>Zn (mg/kg)</b>	15,3	31,3	15,0
<b>Mn (mg/kg)</b>	18,1	16,6	12,2
<b>Mg (mg/kg)</b>	175,8	92,3	211,2
<b>Na (mg/kg)</b>	172,5	73,8	106,3
<b>P (mg/kg)</b>	158,3	116,7	283,3
<b>K (mg/kg)</b>	4487,3	2835,1	7814,3

Tableau 18: Barycentre de la CAH au 12<sup>ème</sup> jour de la fermentation

Classe	1 (PC, MA)	2 (IG,PD)	3 (AN)
<b>Conc 12js (g/kg)</b>	212,6	58,3	90,0
<b>pH</b>	2,3	2,7	2,3
<b>Pb (mg/kg)</b>	0,0	0,1	0,4
<b>Cd (mg/kg)</b>	0,0	0,0	0,0
<b>Fe (mg/kg)</b>	54,0	59,6	48,0
<b>Cu (mg/kg)</b>	2,5	6,2	2,8
<b>Zn (mg/kg)</b>	94,0	0,0	39,7
<b>Mn (mg/kg)</b>	31,1	21,9	49,2
<b>Mg (mg/kg)</b>	961,0	221,2	1065,5
<b>Na (mg/kg)</b>	419,8	342,1	234,7
<b>P (mg/kg)</b>	1 350,0	533,7	686,7
<b>K (mg/kg)</b>	29 174,3	4 965,9	24 911,7

Au 6<sup>ème</sup> jour de fermentation, la plus faible production d'acide citrique a été observée dans la troisième classe (IG) avec 27,3 g/kg et un pH de 3,6. Les fortes teneurs en Mg, K et P constatés au 6<sup>ème</sup> jour, favorables à la production d'acide citrique, pourraient confirmer l'entrée dans la phase de production maximale d'acide citrique des épiluchures d'ignames (IG). Au 12<sup>ème</sup> jour, l'IG demeure toujours dans la classe de faible production d'acide citrique (classe 2 ; IG et PD) avec une production d'acide citrique de 58,27 g/kg au barycentre et un pH de 2,65. Le cuivre et le fer (éléments traces métalliques) présentent leurs plus fortes teneurs au 12<sup>ème</sup> jour dans l'épiluchure d'igname (IG) et la patate douce (PD) est corrélée avec le plomb et le cadmium.

Les ions métalliques  $Fe^{2+}$  et  $Cu^{2+}$ , inhibant la production d'acide citrique par *Aspergillus niger* en FMS (Dhillon, 2012) et étant corrélés avec l'IG, pourraient expliquer la faible teneur en acide citrique de ce substrat. Aussi, les métaux lourds (plomb et cadmium) pourraient également inhiber la production d'acide citrique dans le substrat PD. Certes la littérature ne fait pas état de l'effet d'inhibition due au plomb et au cadmium, mais leurs absences en début de fermentation et leurs présences en phase finale pourraient traduire cet effet. En début de fermentation, *Aspergillus niger* n'utilisant pas de métaux, pourrait les complexer et continuer à consommer les sources de sucres et de carbone pour sa croissance. Mais en phase finale, les sucres et le carbone sont quasiment consommés et avec la présence des ions métalliques ( $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ), il s'en suit une libération de métaux (Pb et Cd), potentiellement toxiques pour les germes de fermentation. D'où leur effet inhibiteur dans la production d'acide citrique en milieu solide.

La papaye (PC) et la mangue (MA) présentent la meilleure classe de production d'acide citrique à la fin de la fermentation (classe 1, Figure 21). Ces substrats sont tous les deux corrélés aux sodium, phosphore, potassium et magnésium. Ces derniers sont connus pour l'amélioration de la production d'acide citrique (Papagianni, 2007). En effet, le magnésium est essentiel à la croissance d'*Aspergillus niger* et le phosphore est une source préférée de ce microorganisme.

### III- CONCLUSION PARTIELLE

Au terme de l'étude sur la production d'acide citrique, il ressort que la pulpe de papaye et la pulpe de mangue de petit calibre sont des sources potentielles de production d'acide citrique parmi les déchets sucrés alors que la patate douce est la meilleure source de production de cet acide pour les déchets amylacés. Les valeurs des productions en acide citrique sont respectivement de 287,7 ; 137,5 et 87,7 g d'acide citrique/kg de déchet pour la pulpe de papaye, la pulpe de mangue et les épluchures de patate douce.

Une étude approfondie sur les facteurs d'induction et d'inhibition de la production d'acide citrique a permis de mettre en exergue l'effet des nutriments et des métaux. Cette étude est décrite pour la première fois et a permis d'appréhender ces facteurs. Ainsi le Magnésium, le potassium et le phosphore sont des inducteurs dans la production d'acide citrique, contrairement au métaux lourds (plomb et cadmium) qui freinent la croissance du microorganisme d'où leur effet inhibiteur sur la production d'acide citrique.

La pomme de cajou, avec une faible production d'acide citrique (90 ,02 g d'acide citrique/kg de déchet de pomme), pourrait être valorisée en bioraffinerie, c'est-à-dire, avec une approche de valorisation séquentielle pour aller trouver de la valeur dans chacune des fractions. Le chapitre 2 aborde les résultats sur les caractérisations physico-chimiques et l'analyse de la fraction lipidique de cette pomme.

## **Chapitre II : BAGASSE DE LA POMME DE CAJOU**

### **I- CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES**

Les résultats de la caractérisation physico-chimique sont présentés dans le tableau 19.

*Tableau 19: Caractéristique physico-chimique de la bagasse de pomme de cajou (% kg/kg MS).*

	<b>Pulpe (P)</b>	<b>Peau rouge (R)</b>	<b>Peau jaune (J)</b>
<b>Cendres (%)*</b>	3,71 ± 0,11	2,22 ± 0,06	2,2 ± 0,09
<b>Protéines (%)</b>	16,31 ± 0,08	16,83 ± 0,05	18,2 ± 0,02
<b>Lipides (%)</b>	7,59 ± 0,37	10,47 ± 0,05	12,06 ± 0,23
<b>Cellulose (%)</b>	19,19 ± 0,30	18,00 ± 0,61	19,92 ± 0,36
<b>Hémicelluloses (%)</b>	41,12 ± 0,24	51,65 ± 0,11	51,1 ± 0,18
<b>pectines</b>	9,28 ± 0,77	10,11 ± 0,48	8,56 ± 0,39
<b>Lignine (%)</b>	4,86 ± 0,23	4,27 ± 0,41	3,65 ± 0,24
<b>pH</b>	4,3	4,3	4,4
<b>Humidité (%)</b>	8,26 ± 0,01	9,27 ± 0,03	9,07 ± 0,06
<b>Matière sèche (%)</b>	91,74 ± 0,01	90,72 ± 0,03	90,93 ± 0,06

\*Les pourcentages sont exprimés en rapport de masse, base matière sèche, sauf pour les paramètres d'humidité et de matière sèche, qui sont en base matière humide.

Les résultats du tableau 19 montrent que les taux d'humidités des échantillons (et donc le taux de matière sèche) sont sensiblement les mêmes. Il en est de même pour le pH. Ces résultats sont proches de ceux de Flávia *et al.*, (2012), (humidité 9,29% ± 0,07% et pH de 4,23 ± 0,01) pour la bagasse de pomme de cajou provenant du Brésil. La faible quantité d'eau résiduelle pourrait lui conférer une longue durée de conservation. En effet, ce niveau de siccité de la bagasse et son acidité ne favorisent pas le développement des microorganismes qui généralement conditionnent la durée de conservation des produits (Ates *et al.*, 2002). Les microorganismes se retrouvent alors dans un état métabolique et physiologique où la plupart des réactions de dégradation favorisées par les réactions chimiques et enzymatiques sont ralenties (Ates *et al.*, 2002).

Les teneurs en protéines, lipides et pectines sont rassemblées dans le tableau 19 qui montre que la teneur en protéines des échantillons varie entre 16,3 et 18,2%. La plus grande valeur est obtenue avec les échantillons de peaux de pomme couleur jaune. Nos valeurs sont supérieures à celles de Lautié en 2001 et de Nair en 2010 qui sont respectivement de 8% et de 9% pour la bagasse de pomme de cajou du Brésil. Ces écarts pourraient être dues à la zone géographique

de culture des pommes de cajou et au fait que les échantillons ont été broyés et que ceux des autres auteurs cités ne l'ont pas été.

Les échantillons contiennent des lipides avec des teneurs comprises entre 7,6 et 12,0%. La plus grande teneur étant obtenue avec la pomme de couleur jaune. Les lipides sont donc concentrés dans la peau. Toutes les valeurs sont aussi supérieures à celle de Nair en 2010 qui est de 4%, cela pourrait se justifier par la granulométrie des poudres de bagasse utilisées dans cette étude (inférieur à 1mm) .

Les teneurs en pectine varient entre 8,5 et 10,1%. La plus grande valeur est obtenue avec les peaux de pomme rouge. Les résultats sont sensiblement conformes à ceux de Chakrabarty *et al en* 1977 (Inde); Nair en 2010 (Brésil) ainsi que de Yapo et Koffi en 2013 (Côte d'Ivoire) respectivement de 10% ; 9% et de 9%  $\pm$  0,1%.

La pectine de pomme de cajou, peu étudiée dans la littérature pourrait constituer une source de valorisation pour la bagasse de pomme de cajou dans l'élaboration d'écoproduits à base de pectine.

L'utilisation de la pectine est croissante et le grignon de pomme demeure l'une des principales sources d'approvisionnement avec de teneurs comprise entre 10 et 15% (Bhushan *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2007; Bhushan et Gupta, 2013). Aujourd'hui la pectine de fruits est utilisée comme agent gélifiant, texturant, épaississant, émulsifiant, excipient, revêtement de film, agent de liaison et stabilisants dans la transformation des aliments, dans les industries cosmétiques et pharmaceutiques (Sriamornsak, 2003; Bhushan *et al.*, 2008; Thakur *et al.*, 1997; Adetunji *et al.*, 2017). L'utilisation de la pectine dans l'industrie pharmaceutique est en croissance, mais la quantité utilisée est beaucoup plus faible par rapport aux utilisations alimentaires. La pectine est utilisée dans de nombreuses préparations pharmaceutiques. En raison de sa capacité à complexer les métaux lourds, de la pectine est utilisée comme agent détoxifiant (Walter, 2012). Les teneurs en cellulose sont comprises entre 18,0 et 19,9%, la plus grande valeur étant obtenue avec l'échantillon de la peau de pomme de cajou de couleur jaune. Ces teneurs sont semblables à celles obtenues par Correia *et al.* en 2013 et Flávia *et al.* en 2012 (18,31 à 19,21%).

Le glucose étant issu de l'hydrolyse de la cellulose, la pomme de cajou pourrait constituer une source importante pour la production de ce sucre.

Les teneurs en lignine varient de 3,65 et 4,86%, la plus grande valeur étant obtenue avec l'échantillon de la pulpe. Ces teneurs sont environ sept fois inférieures à celle obtenue avec les pommes de cajou du Brésil qui est de 23,91% (Flávia *et al.*, 2012).

Les teneurs en hémicellulose sont comprises entre 41,1 et 51,6%. Les échantillons renferment de grandes quantités d'hémicellulose comparativement à ceux de (Correia *et al.*, 2013; Flávia

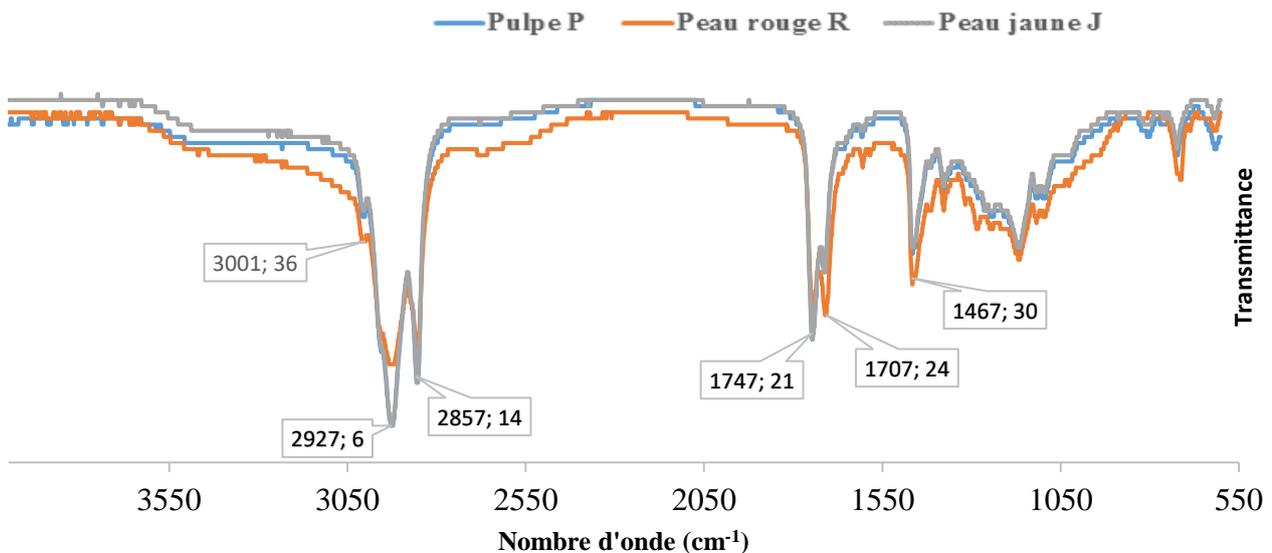
*et al.*, 2012; Rocha, Silva *et al.*, 2014) qui sont comprises entre 8,20 % et 27,0%. La forte teneur en hémicellulose pourrait être liée à la présence massive de pectine et les échantillons pourraient constituer une source importante pour la production de xylitol (Rodrigues *et al.*, 2014; Tiago *et al.*, 2015). L'une des principales sources de production actuelle du xylitol est le bois. Avec la déforestation et ses impacts climatiques et environnementaux, il est nécessaire de trouver une nouvelle source de production du xylitol qui est le principal substitut du sucre classique pour les diabétiques.

## II- FRACTION LIPIDIQUE

Cette partie de l'étude a consisté d'abord en une analyse en spectroscopie infrarouge (IR) permettant de connaître les groupements chimiques présents dans les différents extraits. Ensuite une CCM et une HTLC ont permis l'identification des différents groupes de composés et enfin des chromatographies en phases liquide et/ou gazeuse ont permis de déterminer les profils de l'huile issus de la bagasse de pomme de cajou.

### II-1 Spectroscopie infrarouge

Les spectres infrarouges des lipides de trois échantillons sont présents dans la figure 22. Ils présentent les mêmes allures et sont par conséquent superposables. Cela indique que les trois échantillons contiennent essentiellement les mêmes familles de composés.



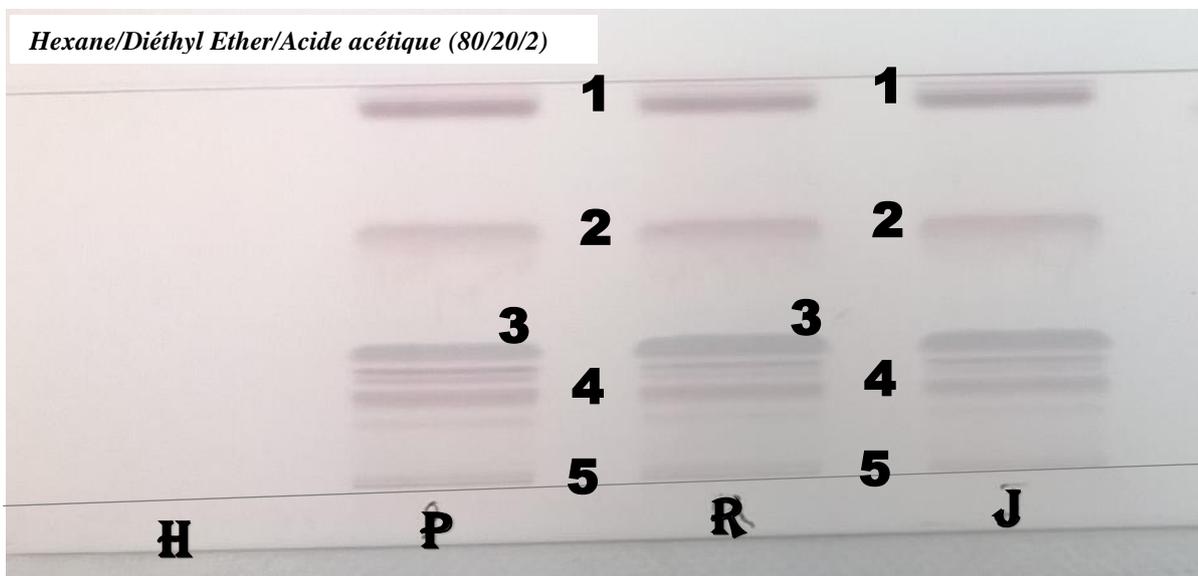
**Figure 22** : Spectres de transmittance en spectroscopie infrarouge des extraits lipidiques de la bagasse de pomme de cajou

Les symboles utilisés et leurs significations sont :  $\nu$  (Elongation),  $\omega$  (Déformation angulaire hors du plan ou horchement),  $\rho$  (Déformation angulaire dans le plan ou balancement),  $\delta$  (Déformation angulaire dans le plan ou cisaillement), a (asymétrique), s (symétrique). Les liaisons chimiques concernées par la vibration sont en gras. Les longueurs d'ondes sont exprimées en  $\text{cm}^{-1}$ . Les attributions ont été faites selon Silverstein *et al.*, 2005 et Rolere *et al.*, 2015.

Le spectre (figure 22) montre la présence de bandes à 3000,4 ( $\nu$  -C=C-H), 2926,6 ( $\nu_a$  -CH<sub>3</sub>), 2856,1 ( $\nu_a$  -CH<sub>2</sub>-), 1746,2 ( $\nu$  -(C=O)-OR), 1706,3 ; 1605 ( $\nu$  -(C=C)-), 1466,3 ( $\delta$  -C-H), 1377,5 ( $\delta$  -CH<sub>3</sub>), 1171,5 ( $\omega$  -CH<sub>2</sub>-), 719,5 ( $\rho$  -CH<sub>2</sub>-). L'ensemble de ces résultats montre la présence de chaînes aliphatiques saturées et insaturées et de groupements carboxyles (ester) et confirme la présence de glycérides dans la fraction lipidique de la bagasse de la pomme de cajou.

## II-2 Chromatographiques sur couche mince

Les profils en chromatographie sur couche mince (CCM) et en chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC) sont présentés dans la figure 23 et figure 24.



**Figure 23** : Photographie de la plaque CCM des extraits lipidiques et du solvant. H : hexane ; P pulpe ; R peau rouge et J peau jaune. 1 (Rf à 94-98) ; 2 (Rf à 60) ; 3 (Rf à 39) ; 4 (Rf à 19, 15-21) et 5 (Rf à 0)

La figure 23 montre que les profils en chromatographie sur couche mince sont les mêmes pour nos échantillons. On peut remarquer sur les chromatogrammes la présence de cinq grands

groupes 1, 2, 3, 4 et 5 avec des rapports frontaux respectifs de 0,94 à 0,98 ; 0,6 ; 0,39 ; 0,15 à 0,21 et 0.

La comparaison des rapports frontaux avec ceux décrits par Spitzer en 1999, permet de déterminer les grands groupes correspondants (tableau 20).

*Tableau 20: Correspondance des grands groupes avec les rapports frontaux selon Spitzer, 1999*

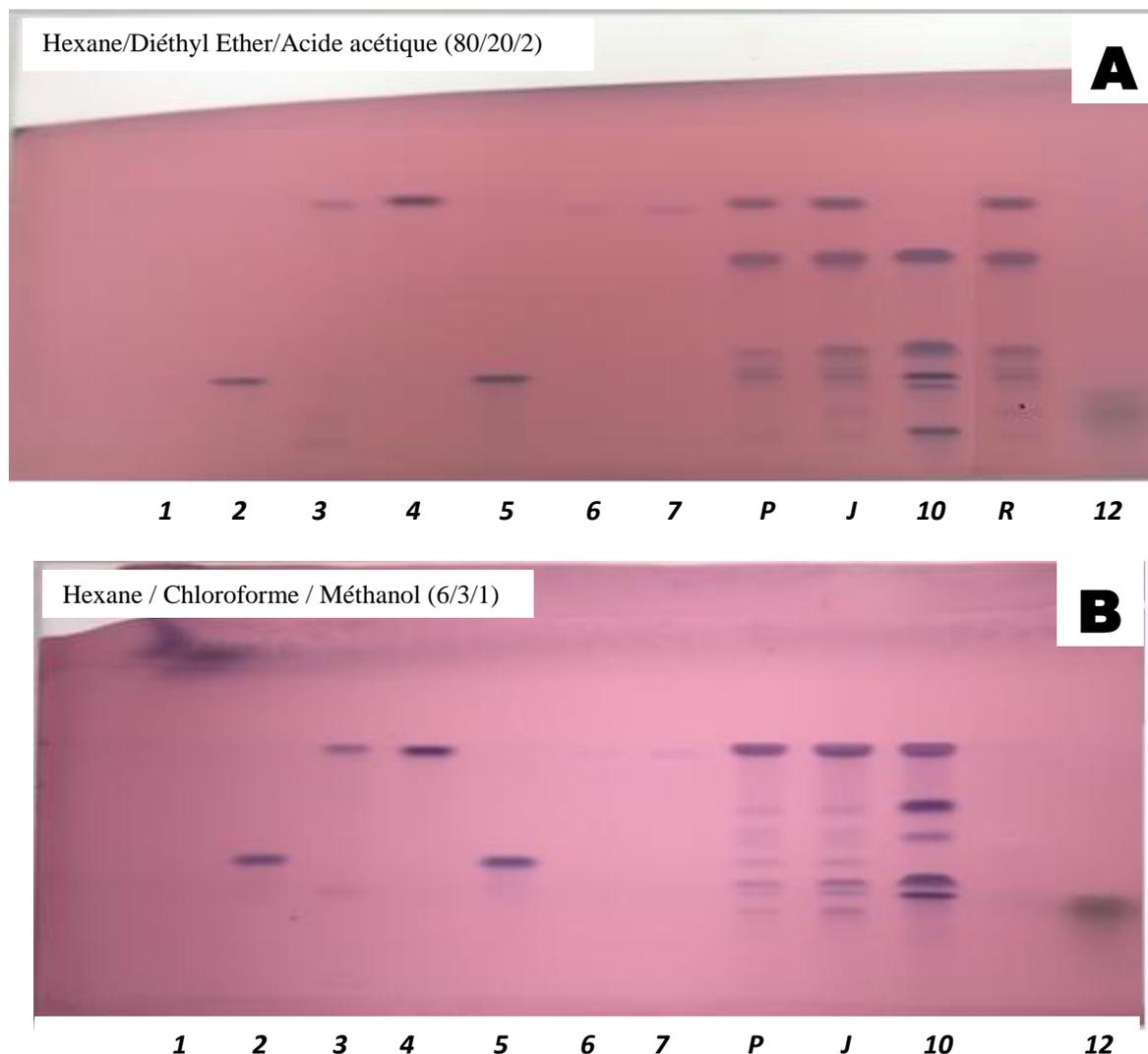
<b>Référence frontale Rf</b>	<b>Correspondance selon Spitzer 1999</b>	<b>Groupes identifiés</b>
0,94 - 0,98	alcanes, squalène, caroténoïdes ester de stérols, cires,	<b>1</b>
0,60	triglycérides	<b>2</b>
0,39	acides gras libres	<b>3</b>
0,19	stérols	<b>4</b>
0,15 - 0,21	diglycérides	<b>4</b>
0	phospholipides	<b>5</b>

Ainsi :

- le groupe 1 de Rf compris entre 0,94 et 0,98 pourrait être constitué d'alcanes, d'alcènes, d'ester de stérols, cires et de squalène (des composées très polaire) ;
- le groupe 2 de Rf de 0,60 pourrait constituer de triglycérides ;
- le groupe 3 de Rf de 0,39 pourrait constituer d'acides gras libres ;
- le groupe 4 avec des Rf compris 0,15 et 0,21 pourrait être constitué d'un ensemble de stérols et de diglycérides ;
- le groupe 5 de Rf égal à 0 pourrait être constitué de phospholipides.

L'identification basée sur le rapport frontal pouvant montrer un ensemble de composés de même Rf n'est pas suffisante pour conclure sur l'identité d'une classe ou d'un groupe de composés lipidiques. Ainsi, l'utilisation d'un standard de chaque groupe lipidique serait importante pour la confirmation des classes identifiées. La figure 24 présente deux plaques (A et B) réalisées avec des systèmes de solvants d'éluion différents, sur lesquelles se trouvent des standards et les extraits lipidiques des trois échantillons.

La comparaison de nos rapports frontaux avec ceux des standards



**Figure 24** : Photographie des plaques de HPTLC des extraits de lipidiques et des étalons

(1) Hexane (solvant) ; (2) Stérols ; (3) Caroténoïdes ; (4) Squalènes ; (5) Cholestérols ; (6) Stéarate de stéaryle C18-18 (cire) ; (7) Stéarate de palmityle C18-16 (cire) ; (P) Pulpe de bagasse de pomme de cajou ; (J) Peau de pomme de cajou de couleur jaune ; (10) Mono-di-triglycérides ; (R) Peau de pomme de cajou de couleur rouge ; (12) Alcanes C27-C29.

L'analyse des spots de la figure 24 montre que les échantillons contiennent des stérols, des caroténoïdes, des squalènes, des cholestérols des cires, des glycérides. Les alcanes C27 – C29 sont formés de traces dans les échantillons. L'analyse plus poussée de chaque famille permettra de déterminer les proportions des familles dans les trois échantillons.

## II- 3 Teneur en acides gras

Les résultats de la composition en acides gras des échantillons sont consignés dans le tableau 21.

Tableau 21: Composition en acides gras des lipides de résidus de pomme de cajou

Acide gras		P	R	J
		%	%	%
<b>saturés</b>				
<b>C16:0</b>	Palmitique	19,36 ± 0,12	20,61 ± 0,33	20,77 ± 0,01
<b>C18:0</b>	Stéarique	2,35 ± 0,16	2,56 ± 0,40	1,98 ± 0,02
<b>C20:0</b>	Arachidique	0,44 ± 0,02	0,76 ± 0,03	0,66 ± 0,01
<b>C22:0</b>	Béhénique	0,80 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,95 ± 0,26
<b>Total</b>		<b>22,94 ± 0,08</b>	<b>24,73 ± 0,19</b>	<b>24,34 ± 0,07</b>
<b>insaturés</b>				
<b>C16:1n7c</b>	Palmitoléique	1,33 ± 0,03	1,29 ± 0,04	1,45 ± 0,01
<b>C18:1n7c</b>		3,94 ± 0,04	3,65 ± 0,11	3,69 ± 0,04
<b>C18:1n9c</b>	Oléique	64,44 ± 0,06	64,10 ± 0,33	64,69 ± 0,15
<b>C18:2n6c</b>	Linoléique	2,29 ± 0,06	2,15 ± 0,06	1,80 ± 0,01
<b>C18:3n3a</b>	Linoléénique	2,43 ± 0,03	1,90 ± 0,13	1,75 ± 0,01
<b>C20:1n9c</b>	Eicosénoïque	2,65 ± 0,01	2,20 ± 0,16	2,30 ± 0,02
<b>Total</b>		<b>77,06 ± 0,04</b>	<b>75,27 ± 0,19</b>	<b>75,66 ± 0,04</b>

P = pulpe, R = peau rouge et J = peau jaune

Les échantillons P, R, et J ont le même profil avec des quantités différentes. Les lipides de ces échantillons sont insaturés avec des proportions d'acides gras insaturés de 77,06%, 75,27% et 75,66% respectivement pour P, R et J. Les différents acides gras trouvés dans les lipides des échantillons se retrouvent dans les huiles de grignon d'olive (Antonopoulos *et al.*, 2006; Ruiz-Méndez *et al.*, 2013), des pulpes de l'argousier *Hippophae rhamnoides* (Cakir, 2004; Dulf, 2012; Fatima *et al.*, 2012) et des graines de *Cucumis amaris* (Sorho *et al.*, 2006). Le profil des acides gras montre que les acides oléique et palmitique sont les plus abondants dans les échantillons avec respectivement (64,44 ± 0,06) % et (19,36 ± 0,12) % pour (P) ; (64,10 ± 0,33) % et (20,61 ± 0,33) % pour (R) ; et (64,69 ± 0,15) % et (20,77 ± 0,01) % pour (Y). L'acide oléique, fort de ses nombreuses applications dans l'industrie alimentaire, pourrait aujourd'hui être utilisé comme agent tumoricide (Jung *et al.*, 2016). La bagasse de pomme de cajou pourrait donc constituer une source de production de ces acides gras. Le tableau 22 présente le profil des glycérides de la bagasse de pomme de cajou.

Tableau 22: Composition du profil glycérique de la bagasse de cajou

Profil des glycérides		P	R	Y
FFA	Total libre*	11,44	12,55	18,14
	% sur Total général**	45,71	44,06	57,11
MAG	Total MG*	0,93	0,45	0,49
	% sur Total général**	3,71	1,59	1,55
DAG	Total DG*	6,72	7,14	6,28
	% sur Total général**	26,84	25,07	19,77
TAG	Total TG*	5,94	8,34	6,85
	% sur Total général**	23,74	29,29	21,58
Total général*		25,03	28,48	31,77

\* Pourcentage par rapport à l'extrait lipidique

\*\* Pourcentage par rapport au total de glycérides

FFA : free fatty acids ; MAG : monoacyl glycérol ; DAG : diacyl glycérol ; TAG : triacyl glycérol

Les résultats du tableau 22 montrent que les lipides issus de la bagasse de pomme de cajou sont riches en acides gras libres, sur les 25 à 31% que représentent ces lipides dans la fraction totale, 44 à 57% sont des acides gras libres. Cela représente une opportunité dans la valorisation de la bagasse de la pomme de cajou. En effet, la plupart des lipides généralement rencontrés sont sous la forme de triglycérides et l'obtention des acides gras libres nécessite une saponification préalable. La production nationale de pomme de cajou en Côte d'Ivoire de plus de 7 millions tonnes en 2015, pourrait donner entre 2 000 à 9 000 tonnes d'acides gras libres. Le tableau 23 présente la valeur des indices et le pH de la bagasse de pomme de cajou.

Tableau 23: Valeur des indices de la bagasse de pomme de cajou

Parameters	P	R	J
Indice d'iode (g de I / 100 g d'huile)	91,27 ± 2,38	91,41 ± 1,20	88,05 ± 2,26
Indice d'acide	48,64 ± 1,32	49,16 ± 0,92	52,86 ± 0,45
Indice de saponification (mg de KOH / g d'huile )	196,01 ± 0,08	169,83 ± 0,05	180,2 ± 0,02
pH	4,3 ± 0,01	4,3 ± 0,01	4,4 ± 0,02

P = pulpe, R = peau rouge et J = peau jaune

Les résultats du tableau 23 montrent que les lipides spécifiques sont riches en acide gras insaturés avec des indices d'iode compris entre 88,05 et 91,41. Ces valeurs sont légèrement supérieures à celles de l'huile de palme comprise entre (45-58) (CODEX ALIMENTARIUS, 2009) et presque identiques à celle de l'olive (75 – 94) (CODEX ALIMENTARIUS, 2013). Les indices de saponification, compris entre 169,83 et 196,01 mg de KOH/g d'huile, sont approximativement voisins de ceux de l'olive 184-196 et inférieurs à celui de l'huile de palme 195-205 (CODEX ALIMENTARIUS, 2013, 2009). L'huile des pulpes possède l'indice de saponification le plus élevé et pourrait être valorisée en savonnerie. Cependant l'indice d'acide varie de 49 à 53. Ces valeurs élevées confirment le caractère acide de la bagasse qui a un pH de 4,3.

#### II-4 Teneur en carotène totaux et tocophérol

Les teneurs en carotènes totaux et en tocophérols, présentés dans le tableau 24 proviennent de l'exploitation des différents chromatogrammes de la Figure 25.

Tableau 24: Composition en carotènes totaux et en tocophérols de la bagasse de pomme de cajou en (mg/100 g d'extrait lipidique)

	<b>P</b>	<b>R</b>	<b>J</b>
Carotènes totaux	133,57 ± 0,01	232,05 ± 0,02	224,07 ± 0,01
α-tocophérol	32,52 ± 0,63	36,56 ± 0,47	37,26 ± 1,11
γ-tocophérol	29,505 ± 0,23	43,62 ± 0,52	37,84 ± 1,90
δ-tocophérol	0,87 ± 0,18	1,52 ± 0,10	1,37 ± 0,20
Total tocophérol	62,89 ± 0,35	81,70 ± 0,36	76,48 ± 1,07

P = pulpe, R = peau rouge et J = peau jaune

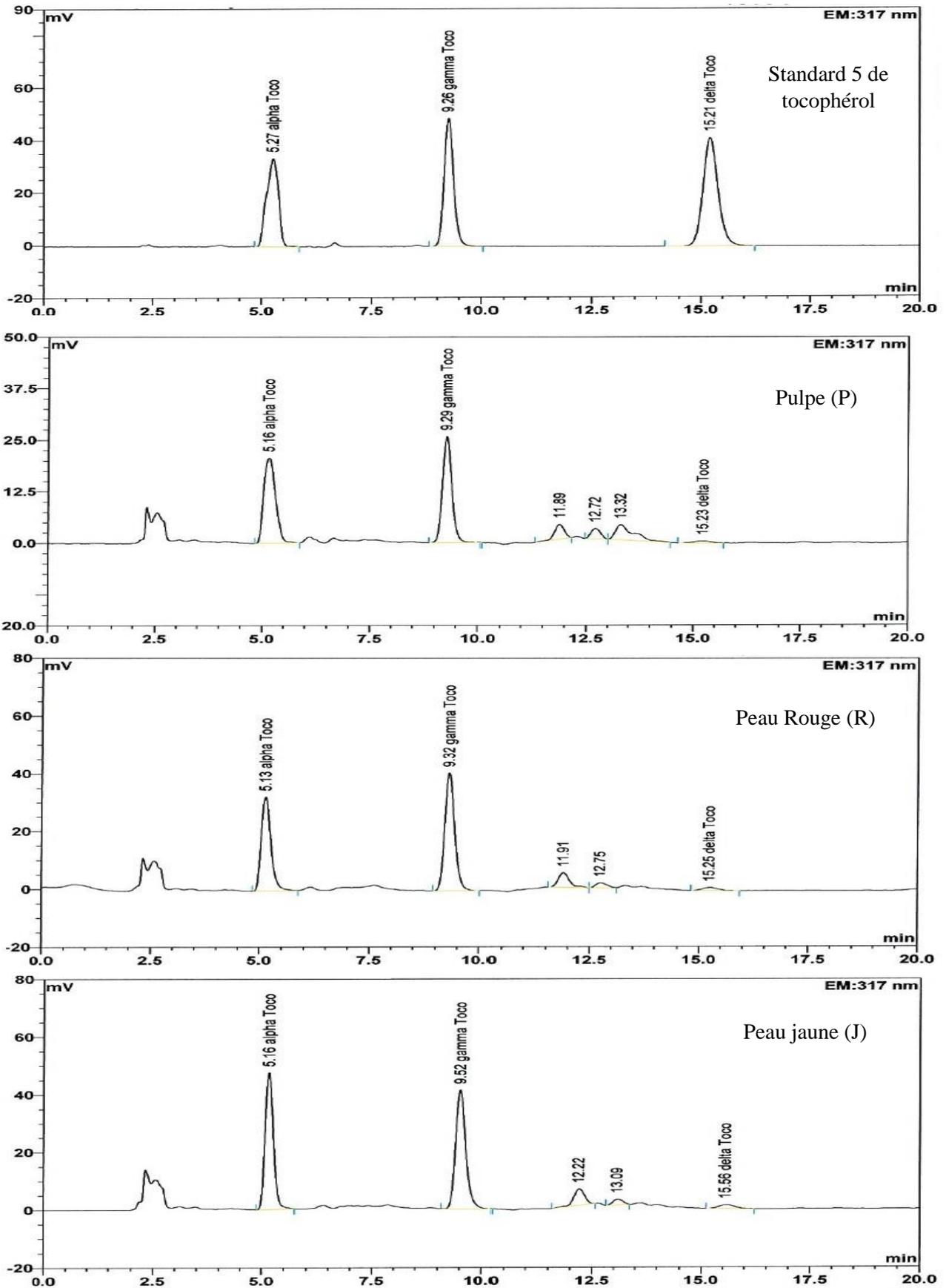


Figure 25 : Profils des tocophérols des lipides de la bagasse de cajou

Les teneurs en carotènes des peaux de la bagasse de pomme de cajou (232 et 224 mg/100 g d'extrait lipidique) sont environ deux fois supérieures à celle de la pulpe (134 mg/100 g d'extrait lipidique) indiquant que la majorité des carotènes se trouve dans la peau. Nous n'avons trouvé dans la littérature aucune étude sur les teneurs en carotènes de la fraction lipidique des peaux et de la pulpe de la bagasse de pomme de cajou pour les comparer à nos résultats. Les teneurs en caroténoïdes totaux de la pomme de cajou sont de 0,6 mg/100 g de fruit (Abreu *et al.*, 2013) ou encore de 0,2 mg/100 g de fruit (Assunção et Mercadante, 2003), valeurs largement inférieures à celles d'autres fruits tropicaux tels que la papaye et la mangue qui sont respectivement de 4,4 à 4,6 mg/100 g et 1,8 à 2,5 mg/100 g de fruit de Gancel *et al en* 2008. Les pommes jaunes ont des teneurs en caroténoïdes légèrement inférieures à celle de couleur rouge. Ces résultats sont similaires à ceux de Schweiggert *et al en* 2016 et qui ont trouvé des valeurs respectives de 0,69 et 0,73 mg/100 g de fruit dans la pulpe des pommes jaunes et rouges. La différence de couleur entre les échantillons colorés en jaune et en rouge riches en caroténoïdes indique la présence d'un autre type de pigment non caroténoïde dans des pommes rouges (Schweiggert *et al.*, 2016). La teneur en carotènes totaux dans les huiles issues des pulpes de la bagasse de pomme de cajou sont largement supérieurs à celles des pulpes de la pomme de cajou qui varie généralement entre 0,69 et 0,73 mg/100 g de fruit de Schweiggert *et al en* 2016.

Les tocophérols de la bagasse de pomme de cajou n'ont fait l'objet d'aucune étude à notre connaissance. Cette bagasse contient trois types de tocophérols. L' $\alpha$ -tocophérol et le  $\gamma$ -tocophérol sont les composés majoritaires avec des teneurs respectives d'environ 32,52 mg/100 g et 29,51 mg/100 pour (P); de 36,57 mg/100 g et 43,62 mg/100g pour (R) et de 37,27 mg/100 g et 37,85 mg/100 g pour (J). Une comparaison entre les deux tocophérols majoritaires montre que le  $\gamma$ -tocophérol est plus abondant dans la variété rouge (R), moins abondant dans la pulpe (P) et en quantité sensiblement identique que l' $\alpha$ -tocophérol dans la variété jaune (J). Le  $\delta$ -tocophérol, minoritaire, est plus abondant dans la variété rouge (R) et moins abondant dans la pulpe (P). Les teneurs en tocophérols totaux dans les trois échantillons sont en général supérieures à celles des huiles des noix de cajou qui varient entre 29,3 et 29,56 mg/100 g (Gómez-Caravaca *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2010; Kornsteiner *et al.*, 2006). Cependant, nos valeurs sont inférieures à celles de (Toschi *et al.*, 1993) qui varient entre 45,3–83,5 mg/100 g et 2,0–5,9 mg/100 g respectivement pour la  $\gamma$ -tocophérol et la  $\delta$ -tocophérol dans les huiles des noix de cajou récoltées en Inde, en Indonésie et au Brésil.

La comparaison des résultats obtenus à celle de quelques études sur certains fruits montrent que la bagasse de pomme de cajou se distingue par sa teneur élevée en  $\alpha$ - et  $\gamma$ -tocophérols (Ryan *et al.*, 2007; Anwar *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2010). Ces deux composés majoritaires pourraient jouer un rôle très important dans la valorisation de cette bagasse. En effet, la présence de l' $\alpha$ -tocophérol dans une huile lui confère des propriétés antioxydantes qui jouent un rôle très efficace dans la prévention contre les maladies cardio-vasculaires et particulièrement l'athérosclérose (Leger, 2000). En plus, le  $\gamma$ -tocophérol possède une activité anti-inflammatoire et peut être important dans la prévention des cancers (Jiang *et al.*, 2000).

## II-5 Teneur en phytostérols et en squalène

Les teneurs en phytostérols et en squalène, présentées dans le tableau 25 proviennent de l'exploitation des différents chromatogrammes de la figure 26.

Tableau 25: Composition en phytostérols et squalène de la bagasse de pomme de cajou (mg/100 g d'extrait lipidique)

<b>Stérols</b>	<b>P (mg/100g)</b>	<b>R (mg/100g)</b>	<b>J (mg/100g)</b>
Squalène	166,06 $\pm$ 0,57	127,24 $\pm$ 1,37	127,20 $\pm$ 7,26
Cholestérol	43,60 $\pm$ 7,12	29,25 $\pm$ 0,14	26,13 $\pm$ 0,45
Campestérol	657,72 $\pm$ 0,36	372,88 $\pm$ 4,36	326,33 $\pm$ 43,67
Stigmastérol	77,14 $\pm$ 7,10	66,20 $\pm$ 4,67	51,62 $\pm$ 2,07
$\beta$ -Sitostérol	2 520,40 $\pm$ 47,17	1 578,31 $\pm$ 9,75	1663,73 $\pm$ 38,02
$\Delta^5$ Avénastérol	594,39 $\pm$ 30,68	367,12 $\pm$ 0,22	347,06 $\pm$ 17,06
$\Delta^7$ Stigmastérol	-	90,80 $\pm$ 7,24	88,48 $\pm$ 7,60
$\Delta^7$ Avénastérol	250,28 $\pm$ 24,61	163,53 $\pm$ 8,69	168,50 $\pm$ 4,43
Gramistérol	320,47 $\pm$ 25,71	252,03 $\pm$ 2,48	225,62 $\pm$ 14,81
Citrostadiénol	563,41 $\pm$ 35,71	326,79 $\pm$ 14,38	360,43 $\pm$ 5,52
Cycloartérol	1774,08 $\pm$ 2,17	994,03 $\pm$ 61,72	1 196,72 $\pm$ 25,39
Méthylène cycloartanol	1 191,50 $\pm$ 16,83	572,56 $\pm$ 52,73	722,32 $\pm$ 12,94
<b>total</b>	<b>8 159,05 <math>\pm</math>18,00</b>	<b>4 940,74 <math>\pm</math>13,98</b>	<b>5 304,16 <math>\pm</math>14,94</b>

P = pulpe, R = peau rouge et J = peau jaune

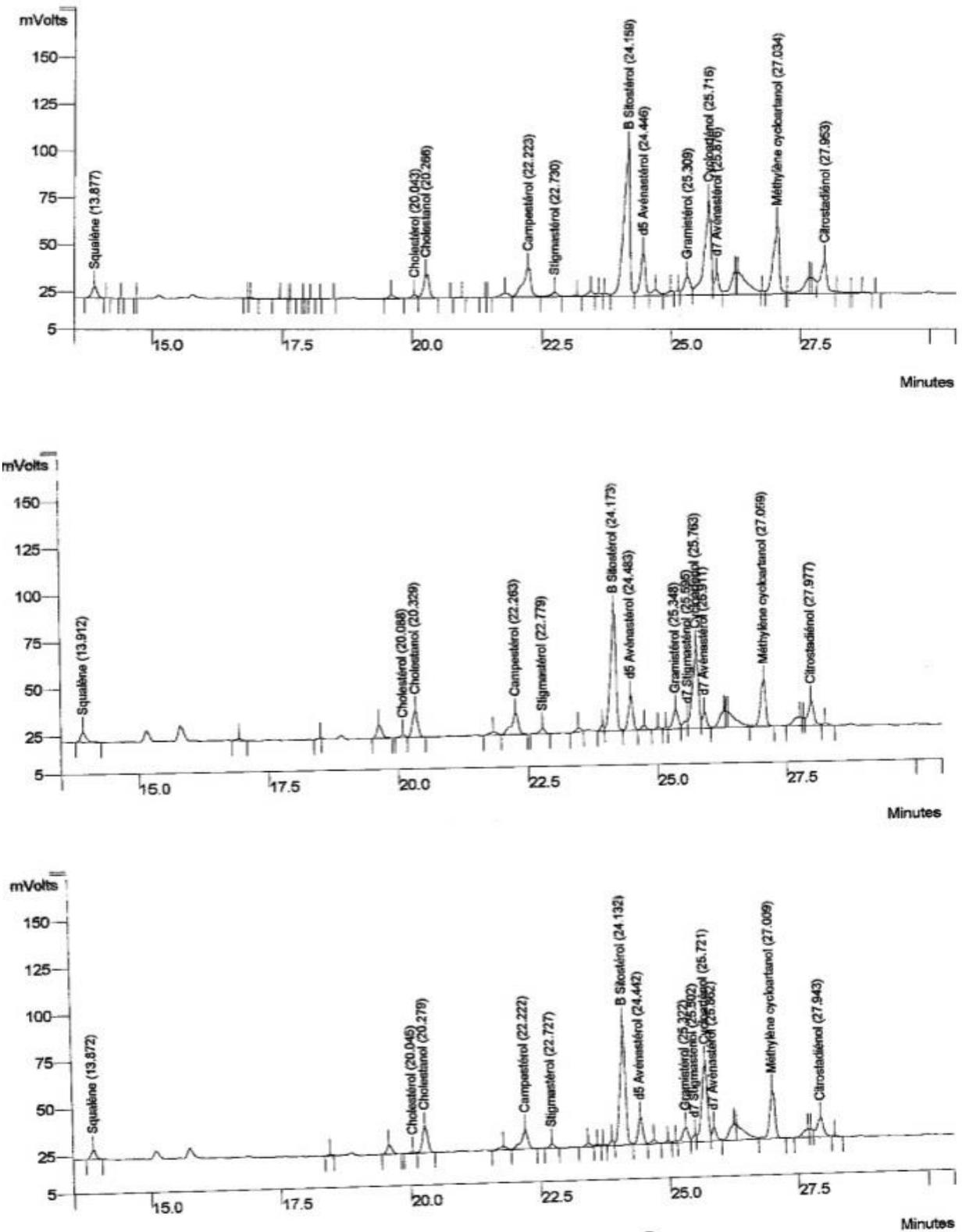


Figure 26 : Chromatogrammes des phytostérols de la bagasse de cajou

Les teneurs en phytostérols totaux sont comprises entre 4940,7 et 8159,0 mg/100 g. La pulpe (P) de la bagasse de pomme de cajou présente une teneur environ deux fois plus grande que celles des peaux de la pomme de cajou des deux variétés (R ou J). Les phytostérols majoritaires dans les différents échantillons sont le  $\beta$ -sitostérol, le cycloarténol, le méthylène cycloartanol, le campestérol, le  $\Delta$ 5-avénastérol, le citrostadiérol, le gramistérol et le  $\Delta$ 7 avénastérol. Le  $\beta$ -sitostérol est le composé majoritaire dans les trois échantillons comme dans l'huile de noix de cajou où sa teneur est de  $1768,1 \pm 210,6$  mg/100 g d'huile (Toschi *et al.*, 1993; Ryan *et al.*, 2007). De faibles teneurs en cholestérol et en squalène respectivement de  $26,13 \pm 0,45$  mg/100 g à  $43,61 \pm 7,12$  mg/100 g et de  $127,20 \pm 7,26$  mg/100 g à  $166,06 \pm 0,57$  mg/100 g de la fraction lipidique ont été observées dans les différents échantillons. La faible teneur en cholestérol présent dans les échantillons serait due au fait qu'il constitue le précurseur de la biosynthèse d'autres phytostérols.

Le profil des phytostérols des trois échantillons issus de la bagasse de pomme de cajou est similaire à celui de l'huile de la noix cajou avec des teneurs plus élevées dans la bagasse de pomme cajou que dans l'huile de noix de cajou (Toschi *et al.*, 1993; Ryan *et al.*, 2007). La bagasse de la pomme de cajou est donc une importante source de phytostérols en comparaison avec le soja, l'olive, le palmier à huile, le colza et certains fruits (Piironen *et al.*, 2000; Costa *et al.*, 2010). Les phytostérols pourraient avoir une action protectrice contre les cancers du côlon, de la prostate et des poumons (Tapiero *et al.*, 2003).

## II-6 Identification des cires aux microscopies à balayage (MEB)

Les photographies des figures 27, 28 et 29 ci-après présentent les analyses d'indentification des cires en Microscopie Electronique à Balayage (MEB) des différents échantillons de la bagasse de cajou.

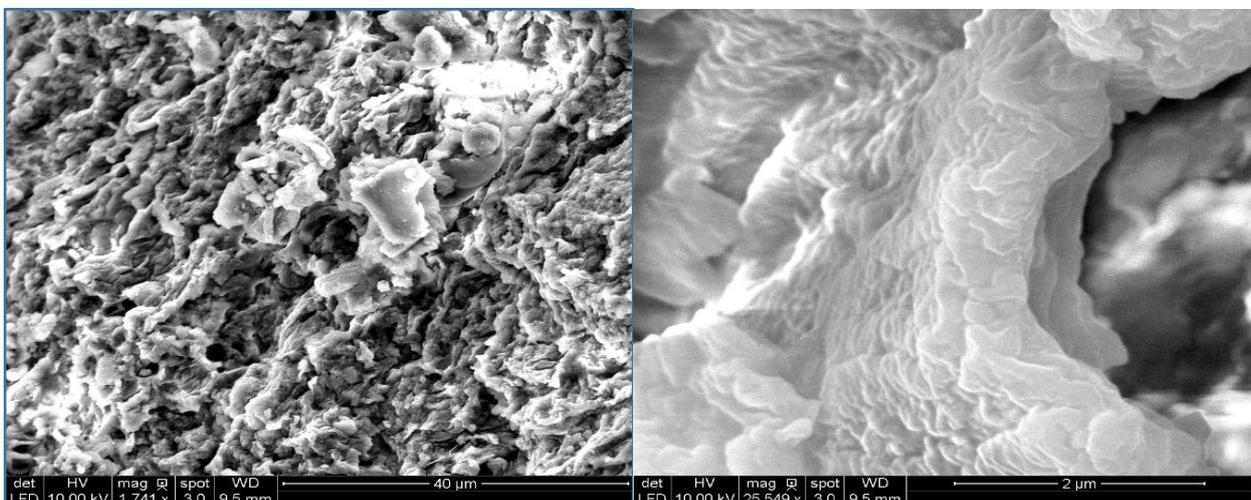
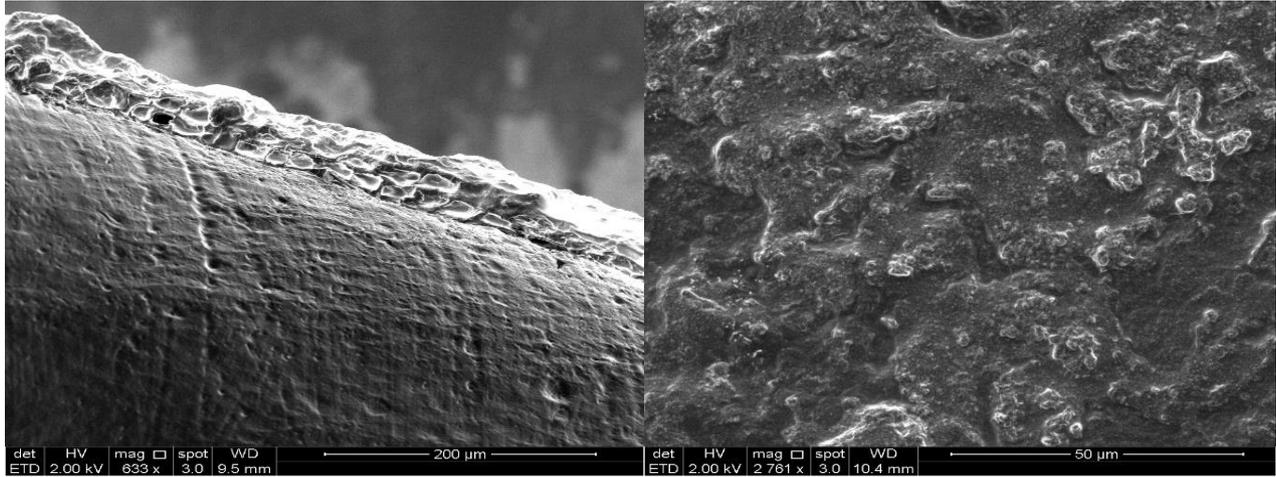
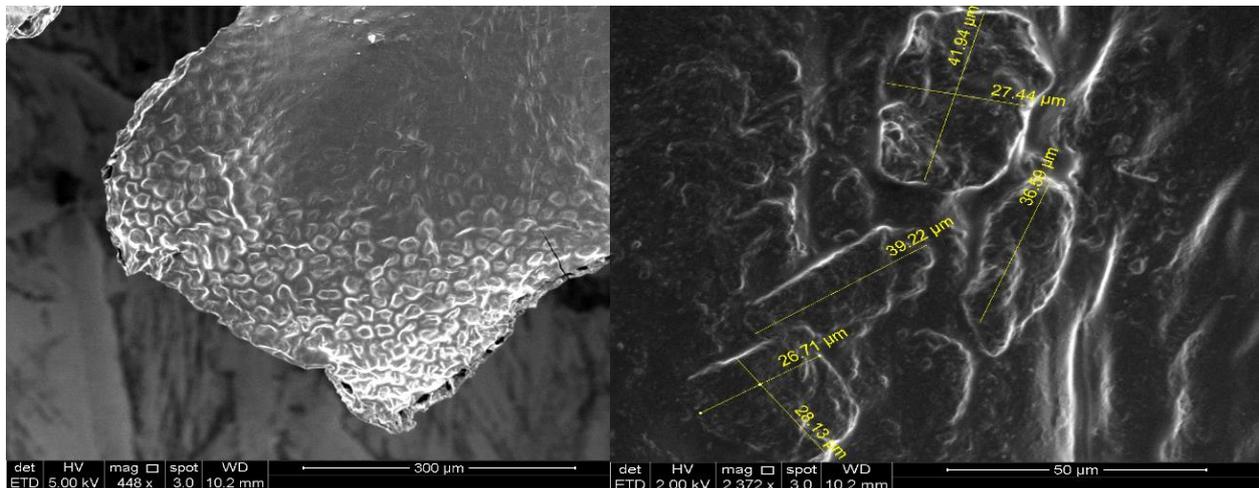


Figure 27 : Photographie de microscopie à balayage (MEB) de la pulpe de pomme de cajou



*Figure 28 : Photographie de MEB de la peau de la pomme de cajou de variété rouge*



*Figure 29 : Photographie de MEB de la peau de la pomme de cajou de variété jaune*

A la première analyse des photographies, les cires ne se présentent pas sous les formes classiques habituelles. Peu de reliefs sont observés sur la pulpe. En revanche, les peaux rouges (R) et jaunes (J) donnent des reliefs peu prononcés.

Ces résultats justifient ceux de la spectroscopie infrarouge (IR) et la chromatographie sur couche mince (CCM) concernant la présence de cires dans les extraits de peaux. Les reliefs détachés de la surface des peaux sont dus aux cires qui le protègent. Lorsqu'on observe ces photographies, on remarque que ces reliefs sont absents dans les échantillons de pulpe (figure 27), preuve que les peaux ont été détachées de la pulpe (figure 28 et figure 29). Aussi il faut mentionner le temps (72 h) de transport des pommes de cajou depuis le lieu de récolte jusqu'au laboratoire d'analyses qui peut favoriser la dégradation ou l'évolution due à des phénomènes

naturels du métabolisme des cires et aussi aux conditions de stockage. A ce titre, il est pratiquement impossible de faire un décirage sur les pommes de cajou à leur arrivée au laboratoire pour faire des analyses MEB en comparant avant et après le décirage.

### III- CONCLUSION PARTIELLE

L'étude sur le potentiel chimique de la bagasse de pomme de cajou, a montré qu'elle présente de grands atouts tant pour ses caractéristiques physico-chimiques que pour sa fraction lipidique.

La caractérisation physico-chimique (polysaccharides, lipides, protéines et pectines) a montré que, quelle que soit la variété de la pomme (rouge ou jaune) ou la partie de la bagasse étudiée (peau ou pulpe), la composition lignocellulosique est dominée par les hémicelluloses. Les teneurs dans cette dernière sont de 41,1 ; 51,6 et 51,1% respectivement pour la pulpe (P), la peau rouge (R) et la peau jaune (J). Cette forte teneur en hémicellulose pourrait faire de la pomme de cajou une source potentielle de production du xylitol. Par ailleurs les teneurs en pectine comprises entre 8,6 et 10,1% pourraient permettre de valoriser cette bagasse comme agents gélifiants, texturants, épaississants, émulsifiants et stabilisants dans la transformation des aliments ainsi que dans les industries cosmétiques et pharmaceutiques.

L'analyse de fraction lipidique a révélé la prédominance des acides gras insaturés dont les teneurs sont comprises entre 75 et 77%. Les acides gras libres sont majoritaires avec des teneurs comprises entre 44 et 57% du profil glycérique alors que les triglycérides ont de faibles teneurs comprises entre 5,9 et 8,3%. En effet, la forte présence d'acides gras libres est bénéfique en savonnerie dans la mesure où cela supprime l'étape de saponification des triglycérides indispensable à la fabrication des savons. La fraction lipidique a également un profil très diversifié de phytostérols dont les teneurs sont comprises entre 4 941 et 8 159 mg/100 g d'extrait lipidique. La bagasse de la pomme de cajou, présentant des fortes teneurs en phytostérols, pourrait être une source de ces composés en comparaison avec le soja, l'olive, le palmier à huile et le colza.

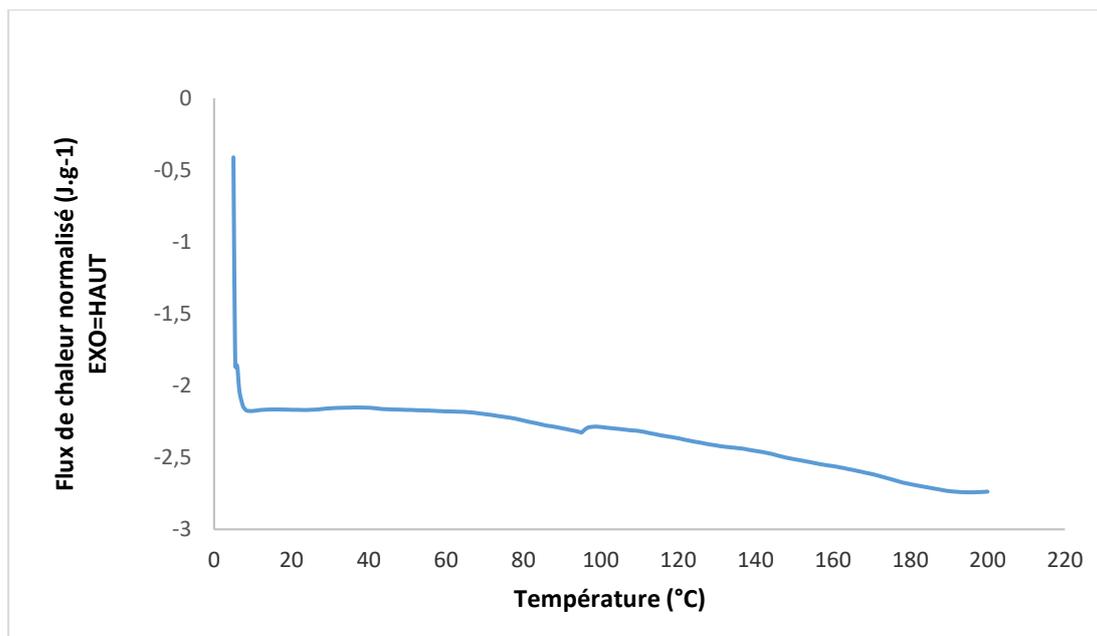
L'étude menée a prouvé qu'il n'y a pas de différence significative entre les variétés rouge (R) et jaune (J). En plus de la valorisation du potentiel chimique de la bagasse de pomme de cajou, il serait important d'explorer d'autres voies de valorisation en agromatériaux. Ainsi, dans le chapitre suivant nous allons donner les résultats de la possibilité d'élaboration d'agromatériaux à partir de la bagasse de pomme de cajou.

### **Chapitre III : VALORISATION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU EN AGROMATERIAUX**

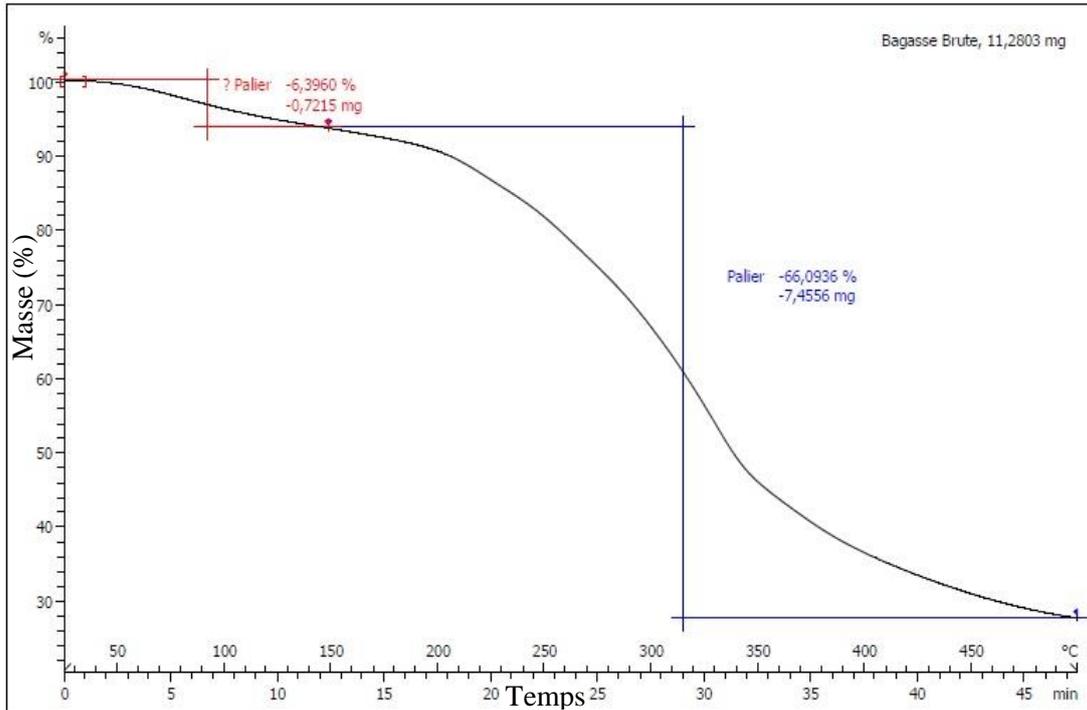
Pour valoriser une substance agricole en agromatériaux par thermopressage, il est nécessaire de déterminer ses caractéristiques thermiques par analyse en calorimétrie à balayage différentiel (DSC) et par analyse thermogravimétrique (ATG).

#### **I- CARACTERISTIQUES THERMIQUES DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU**

La figure 30 et 31 présentent respectivement les résultats de la DSC et l'ATG de la poudre de bagasse de pomme cajou.



*Figure 30 : Thermogramme de calorimétrie à balayage différentiel (DSC) de bagasse de pomme de cajou*



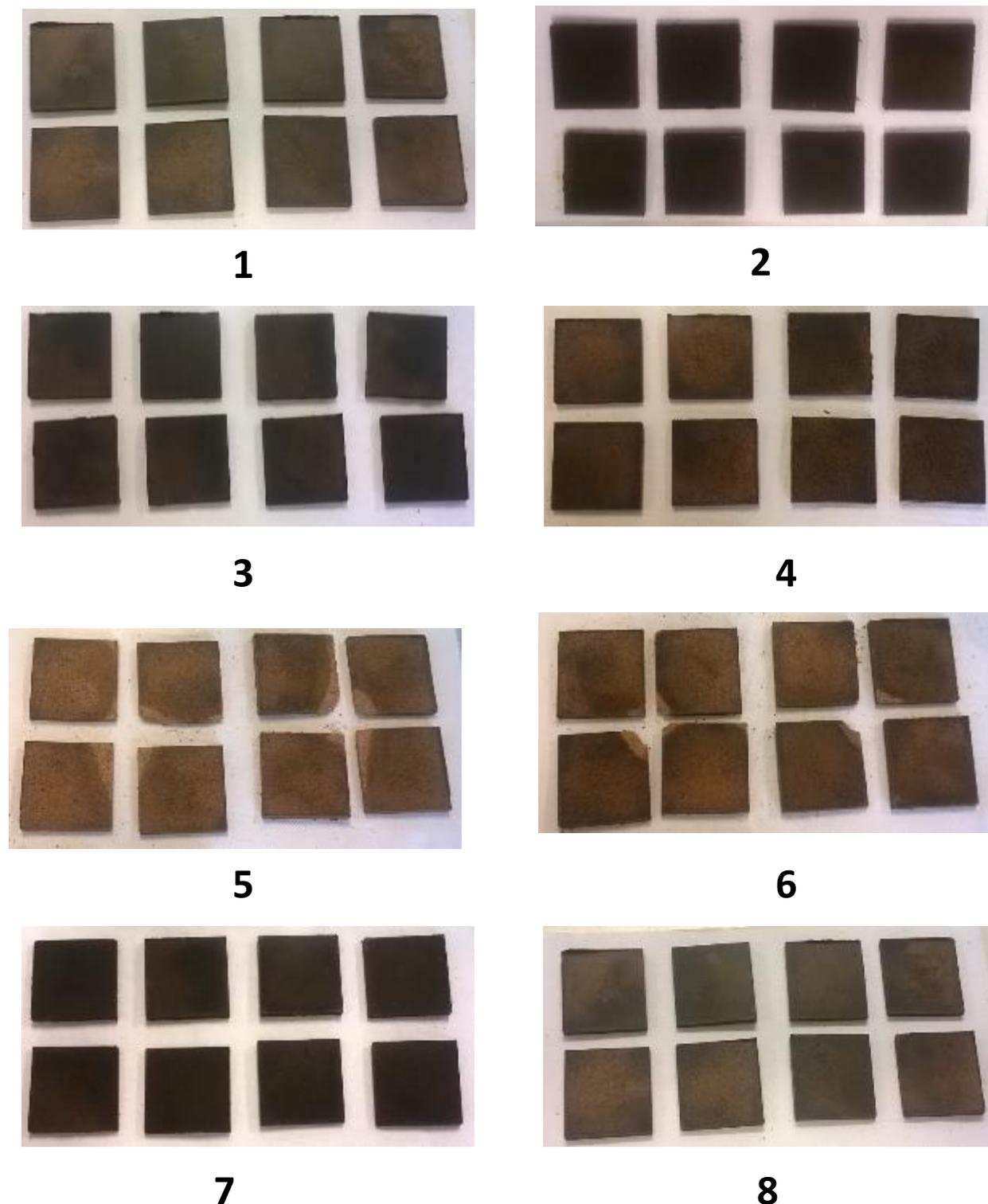
**Figure 31** : Thermogramme thermogravimétrique (ATG) de la bagasse de pomme de cajou

Il ressort du graphe de la figure 34, qu'entre 60 et 120°C, la bagasse de pomme de cajou subit une perte de masse proche de 10%. Cette perte de masse correspond à l'évaporation endothermique continue de l'eau dans la bagasse. Cette humidité résulte de l'équilibre avec une atmosphère de 50 à 60% d'humidité relative. Cette perte d'eau est rapide et traduit la capacité de rétention d'eau de la bagasse de la pomme de cajou due à la présence de fibres lignocellulosiques. Au-delà de 120°C, la diminution de la masse de cette bagasse devient plus lente jusqu'à 200°C.

De 120°C à 200°C, les matières déshydratées ne subissent qu'une très faible perte de masse due à la présence de quelques constituants volatils. Dans cet intervalle, on ne constate pas de transition thermique (fusion) sur la courbe de la DSC (figure 30). Les constituants de la bagasse de la pomme cajou apparaissent thermiquement stables dans cette gamme de température sans pourtant exclure la possibilité des réactions de Maillard. Cet intervalle semble être le mieux adapté à la réalisation des agroformulations en thermopressage de la bagasse de la pomme de cajou. Ainsi, pour trouver la bonne température correspondante à cette formulation, le recours à un plan d'expériences et la méthode de surface de réponse serait la mieux adaptée afin de trouver la meilleure température de thermopressage conduisant à un matériau résistant. Un plan de Doehlert a été utilisé.

## II- AGROFORMULATION PAR THERMOPRESSAGE

Les plaques obtenues par thermopressage sont présentées dans la figure 32.



**Figure 32** : Photographie des plaques de la bagasse de pomme de cajou obtenues par thermopressage : 1 - (140°C ; 100 bars) ; 2 - (180°C ; 100 bar) ; 3 - (160°C ; 120 bars) ; 4 - (120°C ; 120 bars) ; 5 - (100°C ; 100 bars) ; 6 - (120°C ; 80 bars) 7 - (160°C ; 80 bars) et 8 - (140°C ; 100 bars)

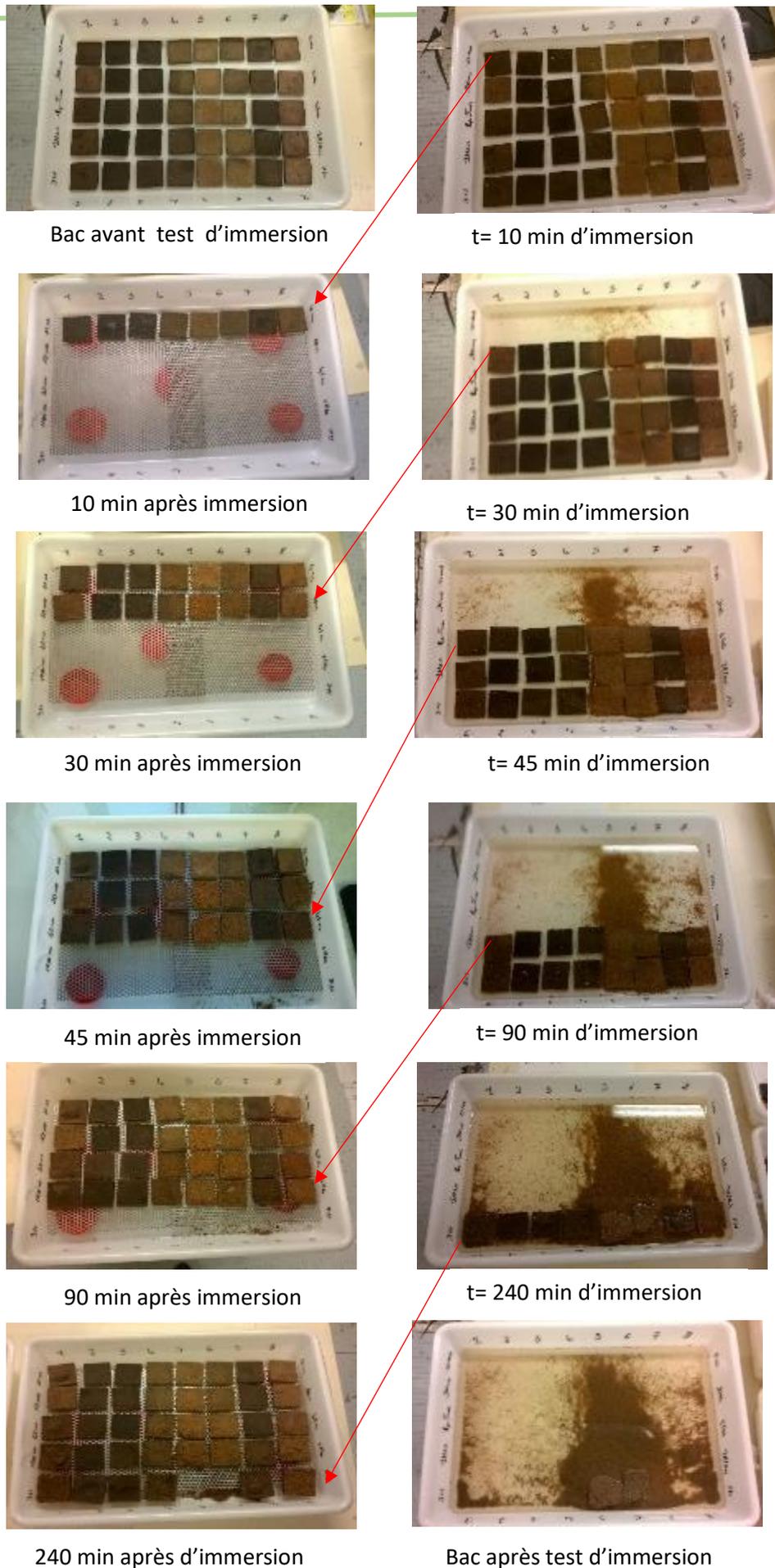
A l'exception des groupes 5 et 6, les plaques au démoulage présentent une bonne structure sans défaut. Les groupes 5 et 6 sont friables au niveau des angles comme le montre la figure 32. Cette friabilité pourrait s'expliquer par le fait que dans ces deux groupes les températures sont de 100 et 120°C respectivement pour les groupes 5 et 6. Ces températures ne sont pas assez élevées pour apporter de la cohésion à moins de 120 bars. Ceci sera d'autant plus évident dans les tests d'immersion dans l'eau.

### **III- RESISTANCE A L'IMMERSION DE LA BAGASSE DE POMME DE CAJOU**

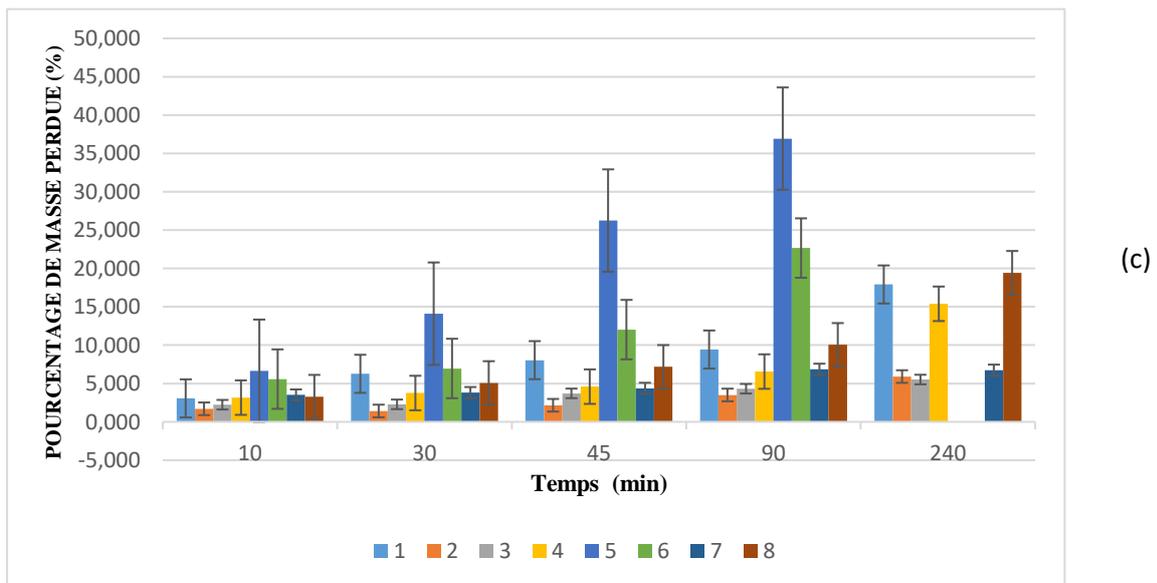
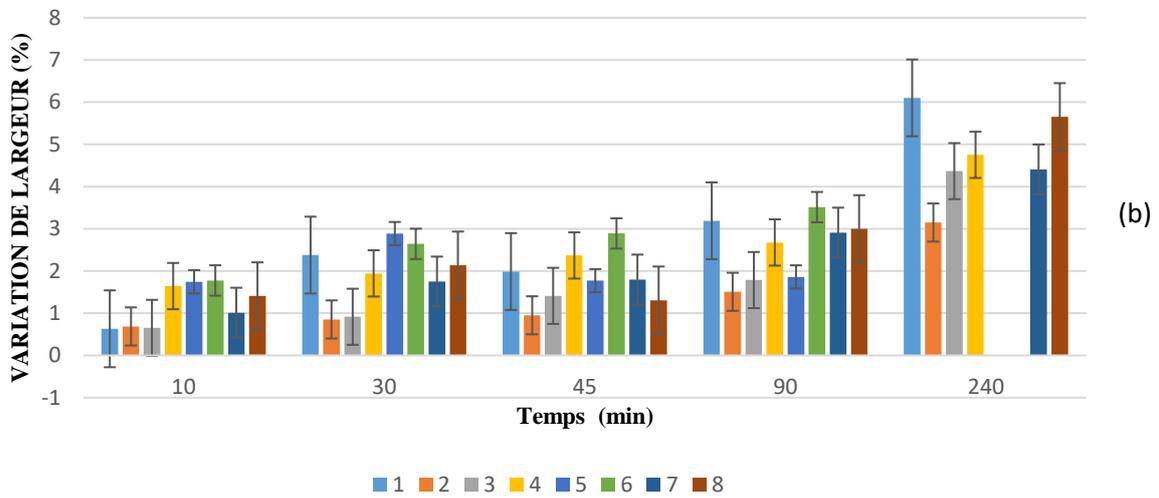
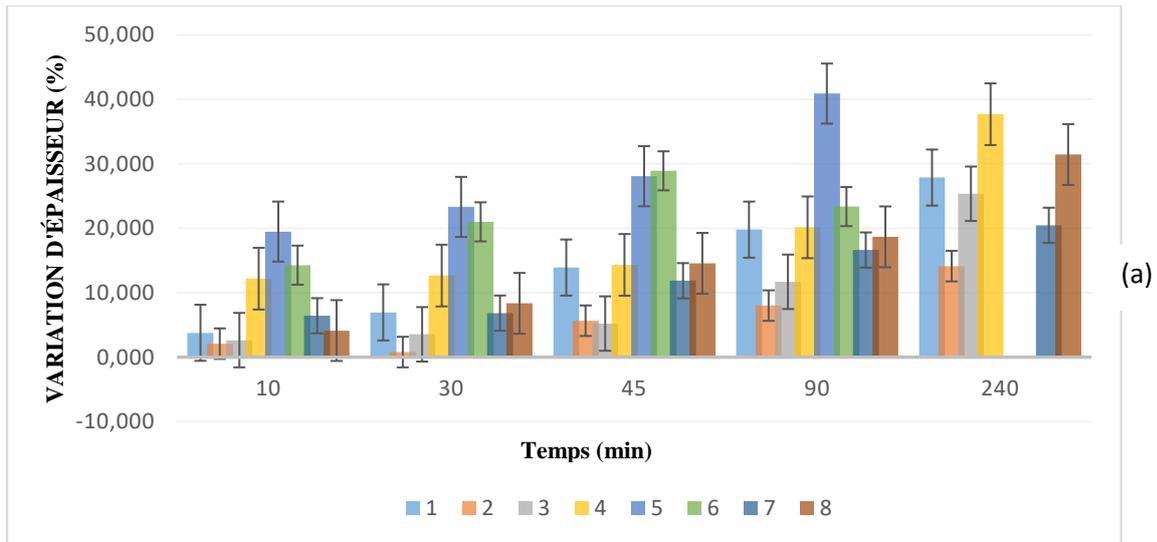
Les tests d'immersion réalisés sont présentés dans la figure 33. A la fin des 10, 30, 45, 90 et 240 min d'immersion, les variations des dimensions et des masses sont calculées avant et après immersion.

Les variations des dimensions et des masses présentées dans la figure 34 traduisent la capacité d'absorption en eau de ces matériaux.

Les matériaux des groupes 5 (100°C ; 100 bars) et 6 (120°C ; 80 bar) absorbent l'eau et gonflent rapidement. Dès la fin de la 30<sup>ème</sup> minute, ces matériaux s'effritent et perdent de la matière dans le bac d'immersion. Après 90 min, ces deux groupes sont irrécupérables. A l'exception de ces deux groupes, les autres groupes donnent visiblement des résultats satisfaisants lors du test d'immersion. Les groupes 2, 3 et 7 semblent être les plus résistants à l'absorption à eau, suivis des groupes 1 et 8.



**Figure 33** : Résistance à l'immersion (de 10 à 240 min) des plaques obtenues par thermopressage



**Figure 34 :** Variation des dimensions et masses des plaques fabriquées des échantillons, après 240 min d'immersion à 25°C Variation d'épaisseur (a), de largeur (b) et de masse (c)

Au regard de ces résultats, trois grands groupes se dessinent : le grand groupe avec faible absorption en eau composé des sous-groupes (2 ; 3 et 7), le grand groupe à absorption moyenne en eau (sous-groupes 1 ; 4 et 8) et le grand groupe à forte absorption en eau (sous-groupes 4 et 5). Ces groupes se comportent de manière différente aux variations des dimensions et des masses.

Le sous-groupe 5 (100°C et 100 bars) et le sous-groupe 6 (120°C et 80 bars) ont une absorption en eau. Ce groupe n'a pas pu terminer le test d'immersion. En effet, comme le confirment les photographies des images de la figure 33, le test d'immersion de ce groupe s'arrête à 90 min et au-delà, ce groupe se disloque totalement dans l'eau. La perte en masse augmente rapidement d'environ 5% en 10 min à de 35% en 90 min pour le sous-groupe 5 et de 22% en 90 min pour le sous-groupe 6 (figure 34). Au niveau des dimensions, la déformation est plus prononcée sur les épaisseurs que les largeurs. En 90 min la déformation atteint 23 à 40% pour l'épaisseur et de 2 à 3,5% pour la longueur. Ces gonflements et la perte de masse dus à l'absorption en eau sont les facteurs responsables de la dislocation de ces deux groupes. Cela permet de mettre en évidence l'insuffisance des couples températures-pression appliqués à ces deux sous-groupes (100°C et 100 bars pour le sous-groupe 5 et 120°C et 80 bars pour le sous-groupe 6). Les analyses de la DCS et l'ATG laissaient prévoir une évaporation d'eau dans cet intervalle de température conduisant ainsi à une instabilité de la matière (la bagasse). L'augmentation de la température permet d'obtenir le groupe à absorption moyenne.

Le groupe d'absorption moyenne en eau est composé des sous-groupes 1,4 et 8 tout en rappelant que le sous-groupe 8 est la répétition du sous-groupe 1 (essais au centre). Dans ce groupe d'absorption moyenne, tous les échantillons finissent le test d'immersion, après les 240 min. Il est possible de les sortir du bac d'immersion et de quantifier la perte de masse ainsi que le gonflement des épaisseurs. La perte de masse évolue très lentement pendant les 90 premières minutes de 0,3 à environ 10%. A la fin du test (t = 240 min) la perte de masse maximale pour ce groupe est de 19%. Au niveau des dimensions, la largeur subit une déformation maximale inférieure à 6% à la fin du test (t = 240 min). Quant à l'épaisseur, on observe une déformation maximale de 37% pour ce groupe à la fin du test. Ces valeurs sont améliorées pour le premier groupe (forte absorption en eau). En effet, les couples températures-pression de ce groupe sont de 120°C et 120 bars (sous-groupe 4) et de 140°C et 100 bars (sous-groupe 1 et 8). A cet intervalle de température, la bagasse de pomme de cajou ne présente pas de modification. Aucune transition vitreuse n'est constatée lors de l'analyse de DSC et l'ATG ne confirme pas une variation de masse importante. Les pressions appliquées (100 et 120 bars)

sont extrêmement importantes pour rendre compacte et non diffuse toute la bagasse de la pomme de cajou à haute température. La montée en température ou en pression pourrait donc permettre d'obtenir une bonne formulation de cet agromatériau. Le prochain groupe pourrait donner plus d'informations sur ce phénomène.

Le groupe de faible absorption, composé des sous-groupes 2, 3 et 7, est le plus résistants à l'immersion. La perte en masse maximale est inférieure à 7% (sous-groupe 7) tout le long du test. La déformation maximale au niveau la largeur est de 4,4% (sous-groupe 7) et celle au niveau l'épaisseur est de 25% (sous-groupe 3). Dans ce groupe, les couples températures /pressions sont de 180°C et 100 bars (sous-groupe 2) ; 160°C et 120 bar (sous-groupe 3), et de 160°C et 80 bars (sous-groupe 7). L'intervalle de variation de la température est compris entre 160 et 180°C. Dans cet intervalle la DSC et l'ATG confirment qu'il n'y a pas de modification majeure sur la poudre de bagasse de pomme de cajou. Les pressions varient de 80 à 120 bars. Cependant une même température est appliquée à deux différentes pressions à savoir 160°C pour 80 et 120 bars respectivement pour les sous-groupes 7 et 3. Selon l'analyse des graphes de la figure 37, les deux couples semblent avoir les mêmes résistances à l'eau avec un tout petit avantage pour le sous-groupe 3 (160°C ; 120 bars). Alors il est difficile de juger de l'effet de la pression après une hausse de la température.

L'augmentation de la température au-delà de 120°C permet d'obtenir par thermopressage des agromatériaux qui résistent à l'eau. L'effet de la pression n'est pas encore avéré à ce niveau de l'étude. Ainsi, l'analyse du plan d'expériences après calculs des coefficients pourrait aider à obtenir les bonnes conditions de thermopressage (couple température /pression). Tout en sachant que les 8 sous-groupes qui composent le plan d'expériences n'ont pas tous atteint les 240 minutes du test d'immersion, le temps d'immersion maximum considéré sera de 90 minutes. La perte de masse et la déformation des dimensions sont les réponses attendues dans cette partie de l'étude. Le logiciel Nemrod n'ayant pas classé de la même manière les sous-groupes, il peut cependant avoir changement au niveau des numéros des sous-groupes composant le plan d'expériences. Mais une concordance sera faite avec le tableau de Nemrod.

Le tableau 26, présente la matrice et le plan d'expérimentation fait conçu par le logiciel Nemrod. Les réponses Y1, Y2 et Y3 sont respectivement attribuées à la variation de l'épaisseur, de la largeur et à la perte de masse.

Tableau 26: Matrice d'expériences et plan expérimentation

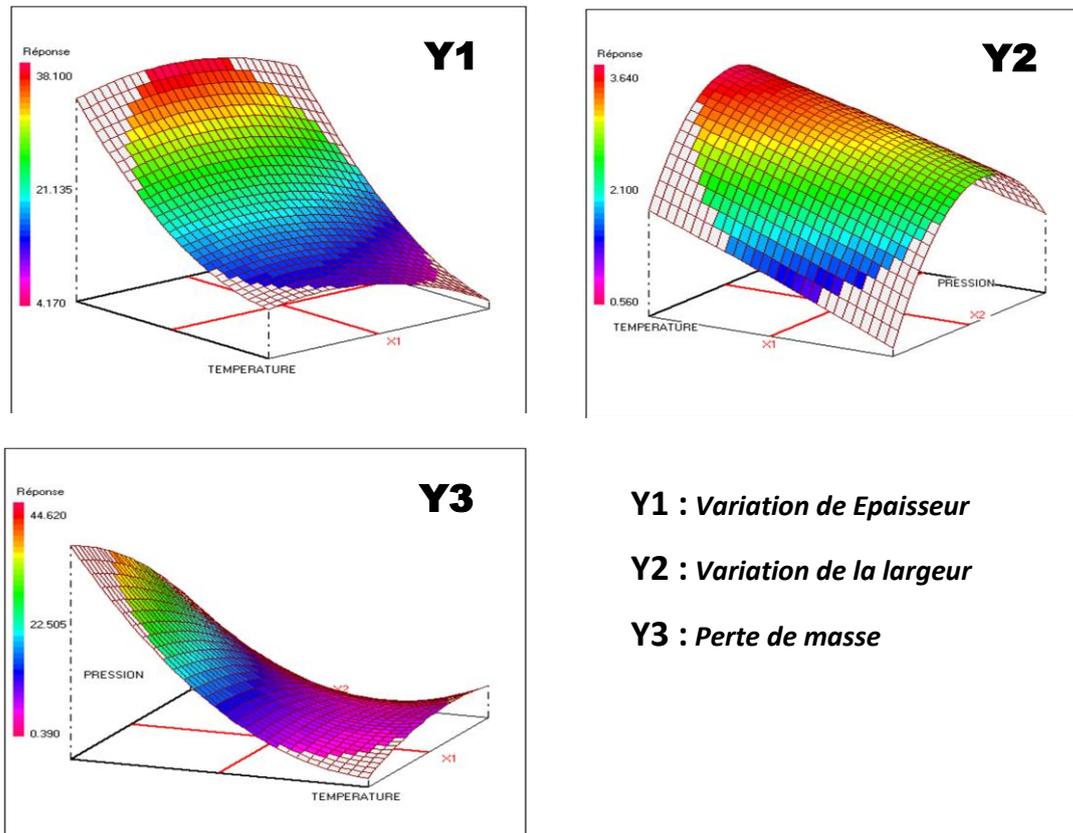
<b>N° Exp</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>T ° (C)</b>	<b>P (bar)</b>	<b>Y1</b>	<b>Y2</b>	<b>Y3</b>
<b>1</b>	1	0	180	100	8,01	1,51	3,50
<b>2</b>	-1	0	100	100	40,89	1,86	36,93
<b>3</b>	0,5	0,87	160	120	11,70	1,79	4,32
<b>4</b>	-0,5	-0,87	120	80	23,37	3,51	22,66
<b>5</b>	0,5	-0,87	160	80	16,62	2,91	6,86
<b>6</b>	-0,5	0,87	120	120	20,15	2,68	6,56
<b>7</b>	0	0	140	100	19,79	3,19	9,43
<b>8</b>	0	0	140	100	18,67	3,0	10,04

Les traitements de ces réponses sont indépendants, mais pour une meilleure appréciation les résultats sont regroupés dans des tableaux communs selon les analyses, comme dans l'analyse des écarts types par exemple (tableau 27).

Tableau 27: Écart-types des différentes réponses

	<b>Variations de l'épaisseur Y1</b>	<b>Variations de la largeur Y2</b>	<b>Pertes de masse Y3</b>
<b>Ecart Type de la réponse</b>	5,12	0,34	0,43
<b>R<sup>2</sup></b>	0,922	0,939	0,957
<b>R<sup>2</sup>A</b>	0,726	0,785	0,851
<b>Nombre de degrés de liberté</b>	2	2	1

Les analyses graphiques de la figure 35 montrent les extremums de chaque réponse.



**Figure 35** : Graphe de variation de l'épaisseur, la largeur et de la perte de masse après immersion

Les équations de régression de chaque réponse ont permis d'obtenir les meilleurs paramètres des trois facteurs. Les coefficients des équations de régression sont présentés dans le Tableau 28. L'équation de la régression est définie par la formule de la relation 16.

$$Y = b_0 + b_1 * X_1 + b_2 * X_2 + b_{11} * (X_1 * X_1) + b_{22} * (X_2 * X_2) + b_{12} * (X_1 * X_2) \quad (16)$$

*Tableau 28: Coefficients des équations de régression du test d'immersion*

Nom	Variation de l'épaisseur Y1	Variation de la largeur Y2	Perte de masse Y3
<b>b0</b>	19,23	3,09	9,735
<b>b1</b>	-13,49	-0,36	-14,15
<b>b2</b>	-2,35	-0,56	-5,38
<b>b11</b>	5,22	-1,41	10,48
<b>b22</b>	-3,44	-0,02	-3,01
<b>b12</b>	-0,98	-0,16	7,83

La résolution des trois équations pour l'obtention des points maxima par la fonction désirabilité du logiciel Nemrod, permet d'obtenir les variables X1 et X2 (Tableau 29) ainsi que les meilleures températures et pressions. Les réponses sont calculées et présentées dans le tableau 30.

*Tableau 29: Coordonnées des points de désirabilité du test d'immersion*

<b>Variables</b>	<b>Valeurs</b>	<b>Facteurs</b>	<b>Valeurs</b>
<b>X1</b>	0,72	Temperature	168,82
<b>X2</b>	0,69	Pression	116,02

Tableau 30: Caractéristiques théoriques du couple températures-pression obtenues par désirabilité

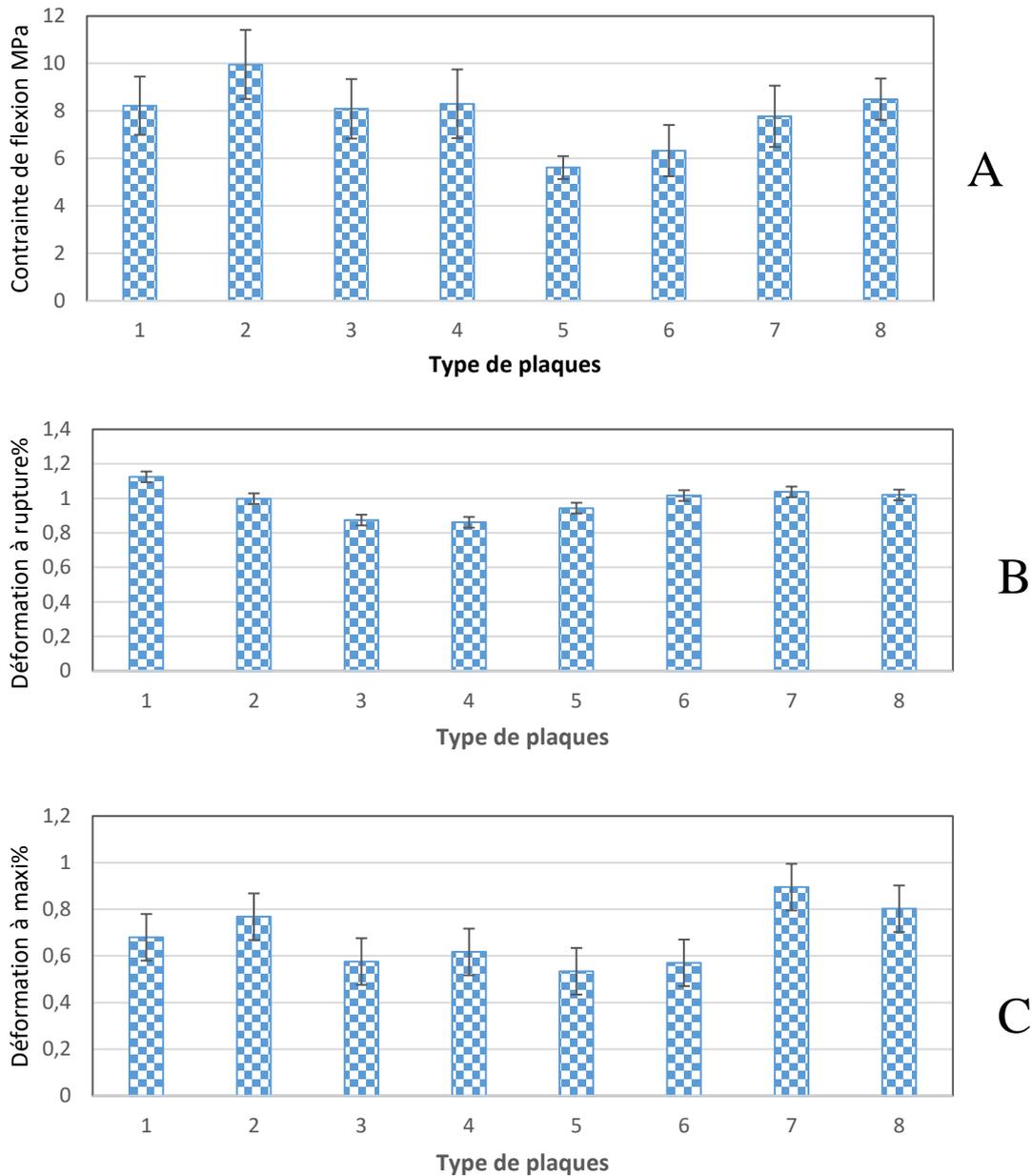
Réponses	Noms de la réponse	Valeurs	di%	Poids	di min%	di max%
<b>Y1</b>	Variation d'Épaisseur	8,444	100	1	100	100
<b>Y2</b>	Variation de la largeur	1,61	100	1	100	100
<b>Y3</b>	Perte de masse	3,71	100	1	100	100
	<b>Désirabilité</b>		100		100	100

Les valeurs optimales de la température et de la pression sont de 169°C et de 116 bars (tableau 29). A ces valeurs optimums correspondant une déformation de 8,44% pour l'épaisseur et de 1,61% pour la largeur. La perte en masse est de 3,71%. Les réponses données sont avec un di de 100%. Ce qui permet de confirmer la fiabilité de ces réponses. De ce fait, la température et la pression obtenues seront celles testées en application du test de flexion.

## IV- RESISTANCE MECANIQUE

### IV-1 Propriétés mécaniques

La propriété mécanique de flexion en trois points du thermopressage de la bagasse de la pomme cajou a permis d'évaluer le couple température /pression mis en étude. En fonction de la propriété évaluée, deux grands groupent se distinguent (figure 36) :



**Figure 36 :** Propriétés mécaniques en flexion trois-points à partir des échantillons

Au niveau de la contrainte de flexion (figure 36A), les deux groupes sont ceux de moyenne de contrainte comprise entre 5,61 et 7,78 MPa et ceux de forte contrainte compris entre 8,1 et 10 MPa. Ce dernier groupe est composé des sous-groupes : 2 (180°C et 100 bars), 3 (160°C et 120 bars), 4 (120°C et 120 bars), et 8 (140°C et 100 bars). Le premier constat qui ressort de cette observation est que les pressions sont comprises entre 100 et 120 bars. Le sous-groupe 2 (180°C et 100 bars) a la plus forte contrainte (10 MPa). Ceci permet déjà d'affirmer qu'une basse pression influe négativement sur la contrainte de flexion. D'ailleurs, cela est mis en

évidence par le groupe de moyenne contrainte, composé des sous-groupes : 5 (100°C et 100 bars), 6 (120°C et 80 bars) et 7 (160°C et 80 bars). Dans ces sous-groupes, les pressions sont de 80 et 100 bars. La contrainte la plus élevée est de 7,777 MPa obtenue pour le sous-groupe 7 (160°C et 80 bars) et la plus faible de 5,615 MPa pour le sous-groupe 5 (100°C et 100 bars). Ces résultats obtenus montrent que la contrainte de flexion du thermopressage de la bagasse de la pomme de cajou est fortement influencée par la variation de la pression appliquée lors de la conception du matériau.

La déformation maximale des échantillons est inférieure à 1% (figure 36C). Cependant, elle permet de mettre en évidence deux groupes. Le premier groupe dont la déformation maximale est inférieure à 0,6% est composé des sous-groupes 3 (160°C et 120 bars) ; 5 (100°C et 100 bars) et 6 (120°C et 80 bars). Le deuxième groupe dont la déformation maximale est comprise entre 0,6 et 0,9% composé aussi des sous-groupes ; 2 (180°C et 100 bars), 4 (120°C et 120 bars), 7 (160°C et 80 bars), 1 et 8 (140°C et 100 bars). Ces deux groupes ne permettent pas de juger sur l'effet du couple température pression, car les deux groupes présentent de basses et fortes températures idem pour la pression.

La déformation à la rupture est comprise entre 0,861% et 1,12% (figure 36B). Les sous-groupes 2 (180°C et 100 bars), 6 (120°C et 80 bars), 7 (160°C et 80 bars), 1 et 8 (140°C et 100 bars) ont une déformation à la rupture supérieure à 1%, tandis que les sous-groupes 3 (160°C et 120 bars), 4 (120°C et 120 bars) et 5 (100°C et 100 bars) ont une valeur comprise entre 0,861% et 1%. Tout comme la déformation maximale, ces deux groupes ne permettent pas de juger de l'effet du couple température /pression sur la flexion.

## I-2 Plan d'expérience du test de flexion

Le plan d'expérimentation du test de flexion et la matrice d'expériences sont présentés dans le Tableau 31.

Tableau 31: Matrice d'expérience et plan d'expérimentation du test de flexion

N° Exp	X1	X2	T ° (C)	P (bar)	Contrainte de rupture (MPa)	Déformation à la rupture (%)
1	1	0	180	100	9,96	1,00
2	-1	0	100	100	5,62	0,94
3	0,5	0,87	160	120	8,09	0,87
4	-0,5	-0,87	120	80	7,89	1,02
5	0,5	-0,87	160	80	7,78	1,04
6	-0,5	0,87	120	120	8,30	0,86
7	0	0	140	100	8,22	1,13
8	0	0	140	100	8,50	1,02

Le traitement des données du plan d'expériences a permis d'obtenir les équations de régression de chaque réponse (relation 17). Les coefficients des équations de régression sont présentés dans le Tableau 32.

$$Y = b_0 + b_1 * X_1 + b_2 * X_2 + b_{11} * (X_1 * X_1) + b_{22} * (X_2 * X_2) + b_{12} * (X_1 * X_2) \quad (17)$$

Tableau 32: Coefficients des équations de régression test de flexion

Noms	Contraintes de flexion	Déformation à la rupture
<b>b0</b>	8,36	1,07
<b>b1</b>	1,4	0,02
<b>b2</b>	0,22	-0,09
<b>b11</b>	-0,58	-0,10
<b>b22</b>	-0,27	-0,13
<b>b12</b>	-0,06	-0,00

La résolution simultanée des équations de régression par le logiciel Nemrod (la fonction désirabilité) a permis d'obtenir les meilleurs paramètres de température et de pression. Ces derniers sont présentés dans les tableaux 33 et 34.

Tableau 33: Coordonnées des points de désirabilité test de flexion

Variabes	Valeurs codées	Facteurs	Valeurs
X1	0,744	Température	169,8
X2	0,67	Pression	115,41

Tableau 34: Caractéristiques théorique du couple température / pression obtenues par désirabilité

Réponses	Noms de la réponse	Valeurs	di%	Poids	di min%	di max%
Y1	Contrainte de rupture	9,07	100,00	1	100,00	100,00
Y2	Déformation à la rupture	0,91	100,00	1	100,00	100,00
	<b>Désirabilité</b>		100,00		100,00	100,00

Les résultats de la désirabilité montrent que les paramètres de température et de pression sont respectivement de 170°C et de 115 bars. Ces derniers sont quasiment similaires à ceux du test d'immersion, 169°C et une pression 116 bars. Ainsi, pour une bonne opération en thermopressage de la bagasse de la pomme de cajou, faudrait-il opérer à 170°C pour la température avec une pression de 116 bars.

Par ailleurs, pour une utilisation domestique des agromatériaux élaborés dans ce travail, il serait judicieux d'évaluer leurs qualités microbiologiques.

## V- TESTS MICROBIOLOGIQUES

Les images de la figure 37 présente les résultats des tests microbiologiques réalisés sur les plaques avec *Aspergillus Niger*.

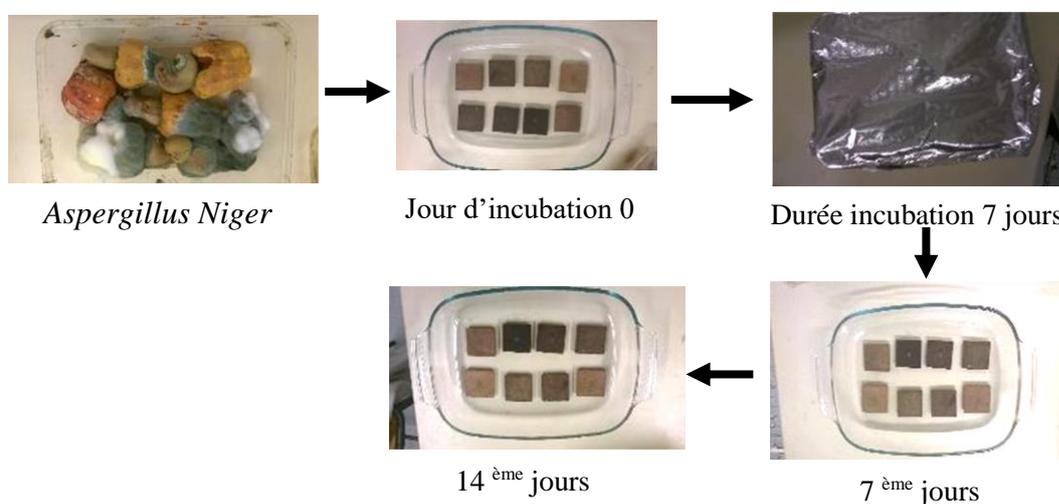


Figure 37 : Tests microbiologiques sur les plaques obtenue par thermopressage de la bagasse de la pomme 116

Les images de la figure 37, montrent que les germes repiqués sur les agromatériaux n'ont pas pu se développer. Cela peut être dû à l'effet du cardanol et de l'acide anacardique présent dans la bagasse de pomme de cajou. En effet le cardanol est un antimicrobien, et se retrouve concentré dans la bagasse. Cette bagasse de pomme de cajou pourrait donc être une très bonne matière première pour la réalisation d'agromatériaux « antibactériens ».

Au regard de tous les tests menés sur ces différents d'agromatériaux issus de la bagasse de la pomme de cajou, on pourrait conclure que les meilleurs paramètres à utiliser dans l'élaboration de ces matériaux sont de 170°C pour la température et de 116 bars pour la pression. Ainsi, le matériau obtenu aura une durée de vie de plus 90 min en immersion sans déformation et sera résistant aux chocs de flexion. Les images de la figure 38 présentent des objets moulés réalisés en utilisant ces paramètres.

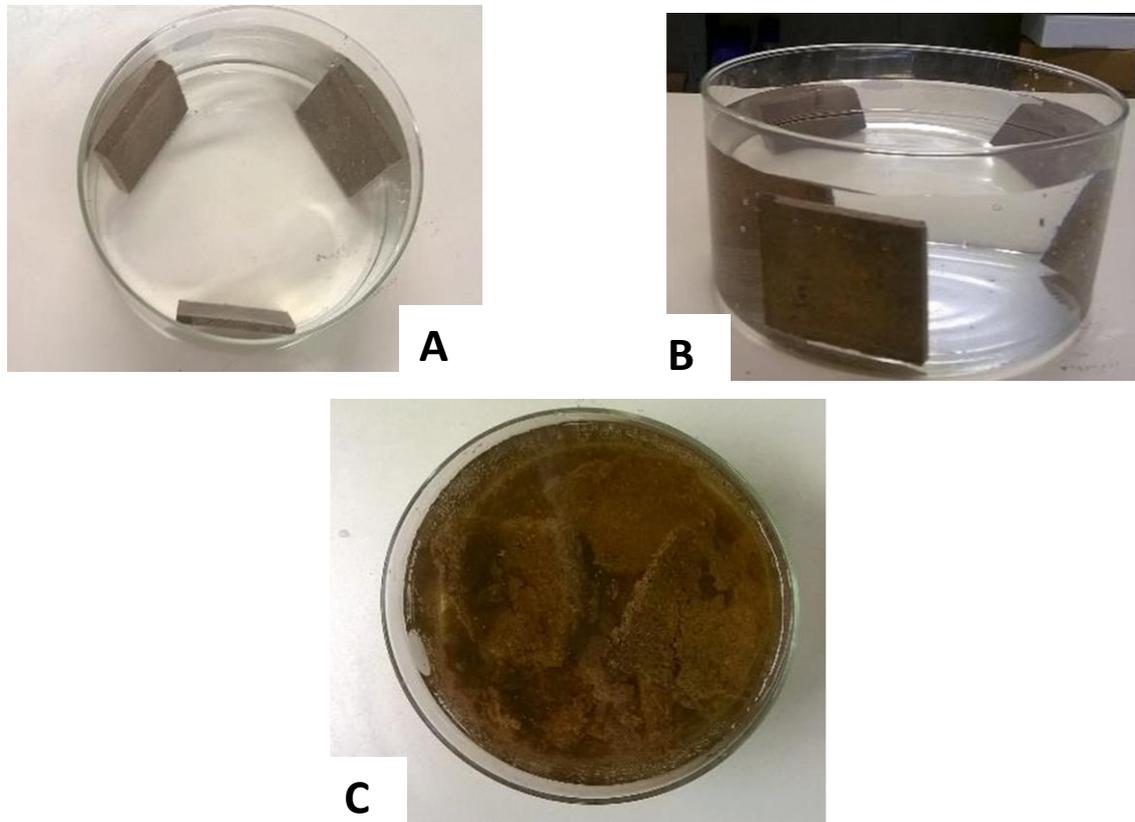


**Figure 38 :** Objets réalisés par le meilleur couple température pression obtenue

Un test de confirmation sur ces agromatériaux a été réalisé pour confirmer les résultats théoriques obtenus.

## VII- CONFIRMATION

Les résultats du test d'immersion de confirmation sont présentés dans la Figure 42



**Figure 39** : Test d'immersion de confirmation  
A ( $t=0$  min), B ( $t=90$  min) et C ( $t=390$  min)

Les images de la figure 39 montrent que les plaques obtenues avec les valeurs de désirabilité sont intactes lors du test d'immersion. Ce test dure jusqu'à 390 min avant la désintégration totale des plaques. Les paramètres de mesure présentés dans le Tableau 35 montrent que les valeurs obtenues sont sensiblement égales aux valeurs prédites par le modèle.

*Tableau 35: Résultats des tests de confirmation du couple température pression*

	Variation de l'Épaisseur	Variation de la largeur	Perte de masse	Contrainte de rupture	Déformation à la rupture
<b>Moyenne</b>	9,13	1,80	3,28	9,36	0,82
<b>Ecart-type</b>	0,245	0,21	0,15	0,25	0,13

## VIII- CONCLUSION PARTIELLE

Au terme de ce chapitre dont le but était la conception d'agromatériaux à base de bagasse de pomme de cajou par thermopressage, il s'avère que plusieurs étapes sont indispensables à la réalisation de ce projet. En effet, la bagasse de pomme de cajou présente plusieurs diversités dans sa composition. Ainsi, il a été judicieux de procéder d'abord par des analyses de caractérisation de cette bagasse qui sont l'analyse calorimétrique à balayage différentiel (DSC) et l'analyse thermogravimétrique (ATG). Ces analyses ont permis de trouver une zone de température comprise entre 100°C et 180°C où la perte en masse de cette bagasse est non significative.

La zone de température couplée à une pression variant de 80 à 120 bars a été utilisée pour la réalisation de différentes plaques d'agromatériaux par thermopressage. Deux plans d'expériences (surface de réponse de Doehlert) à deux facteurs (température et pression) ont permis de déterminer les meilleures température et pression pour le premier plan d'expériences est relatif au test d'immersion avec pour réponses la perte de masse, et les gonflements sur l'épaisseur et la largeur. Le second plan présente les résultats du test de flexion avec pour réponse, la contrainte maximale de flexion et la contrainte à la rupture.

Après l'obtention des valeurs de température et de pression, le couple 170°C et 116 bars a été choisi pour la réalisation des plaques suivie du test de confirmation pour la vérification des valeurs théoriques obtenues par le logiciel « Nemrod ». Plusieurs autres formes ont été réalisées en fonction des besoins d'utilisation comme : des pots pouvant servir dans l'agriculture (comme pot de repiquage), de grandes planches pouvant servir dans la fabrication des meubles et aussi des plaques d'isolation pour le bâtiment. Un test bactériologique a été réalisé et révélé un résultat négatif, car la bagasse de pomme de cajou contient du cardanol qui est un anti-bactéricide.

En définitive la bagasse de pomme de cajou pourrait bien servir à l'élaboration d'agromatériau par la technique de thermopressage. Les domaines d'applications pourraient aussi être l'agriculture, le bâtiment ou l'ameublement.

## CONCLUSION GENERALE

La Côte d'Ivoire, pays agricole, connaît de très grands succès sur le marché de l'exportation agricole. Elle génère d'importants sous-produits dont 17 ont fait l'objet de valorisation en bioproduits dans cette étude.

Au terme de l'étude sur la production acide citrique par *Aspergillus niger*, la pulpe de papaye et la pulpe de mangue de variété Adams sont les sources potentielles de production d'acide citrique à partir des déchets sucrés alors que les épluchures de patate douce sont la meilleure source pour les déchets amylacés. Les productions en acide citrique sont de 288 ; 138 et 88 g/kg de résidu respectivement de la pulpe papaye, de la pulpe de mangue et des épluchures de patate douce.

L'étude a montré que le magnésium et le potassium (Mg et K) sont favorables à la production d'acide citrique alors que les métaux lourds (Pb ; Cd) freinent la croissance du microorganisme et sont défavorable à la production de l'acide citrique.

La pomme de cajou à une production moyenne d'acide citrique de 90 g/kg. Dans la recherche de valorisation des déchets de pomme de cajou, les caractéristiques physico-chimiques de la bagasse ont évaluées et ceci a permis de déterminer des polysaccharides, lipides, protéines et pectines. La composition lignocellulosique est dominée par les hémicelluloses dont les teneurs sont de 41% pour la pulpe (P), de 52% pour la peau rouge (R) et de 51% pour la peau jaune (J).

L'analyse de la fraction lipidique a révélé la prédominance des acides gras insaturés comprise entre 75% pour (R) et 77% pour (P). Ces acides gras sont majoritairement des acides libres avec des teneurs comprises entre 44% pour (R) et 57% pour (J). Par ailleurs, la fraction lipidique a un profil très diversifié en phytostérols dont les teneurs sont comprises entre 4,94 et 8,16 g/100 g d'extrait lipidique respectivement pour (R) et (P).

La conception d'agromatériaux à partir de la bagasse de la pomme de cajou par thermopressage a permis de déterminer le meilleur couple température/pression qui est de 170°C et 116 bars.

Des tests d'immersion avec pour réponses la perte de masse et les gonflements sur l'épaisseur et la largeur et des tests de flexion avec pour réponse la contrainte maximale de flexion et la contrainte à la rupture ont permis de confirmer la température de 170°C et pression de 116 bars

pour la réalisation des matériaux. Un test microbiologique a été réalisé et a permis d'établir les actions antimicrobiennes des plaques élaborées.

La réalisation d'agromatériaux à base de bagasse de pomme de cajou est donc possible par thermopressage. Cette technique est moins onéreuse et facile à mettre en place dans un pays moins industrialisé et elle permet la valorisation à 100% de la bagasse de la pomme cajou sans ajout d'autres composantes. Elle est idéale et ouvre plusieurs perspectives dans l'utilisation des agroressources en Côte d'Ivoire.

### **Perspectives de cette étude**

A partir de ces travaux, quelques perspectives plus générales peuvent être proposées, selon les objectifs visés :

- dans les domaines de l'agriculture, du bâtiment et de l'ameublement les agromatériaux issus de la bagasse de pomme de cajou pourraient servir respectivement : comme pot de repiquage, pour l'isolation des bâtiments (chauffage contre le froid), et comme porte de placard. Cela contribuerait à stopper l'utilisation massive du bois et soulagerait l'agriculture en Côte d'Ivoire par l'éradication des sacs plastiques de repiquage.
- la bagasse de pomme de cajou pourrait aussi être une source potentielle de production du xylitol avec la forte teneur en hémicellulose. Les teneurs en pectine pourraient permettre de la valoriser dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.
- la fraction lipidique, avec la forte présence d'acides gras libres serait bénéfique en savonnerie sans oublier cette diversité de phytostérols dont qui pourrait être une autre source de valorisation alimentaire.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aboh, A.B., Dougnon, J.T., Atchade, G.S.T., Tandjiekpon, A.M., 2011. Effet d'aliments à base de pomme cajou sur les performances pondérale et la carcasse des canetons en croissance au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5, 2407–2414. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v5i6.20>
- Abreu, F., Perez, A.M., Dornier, M., Reynes, M., 2005. Potentialités de la microfiltration tangentielle sur membranes minérales pour la clarification du jus de pomme de cajou. *Fruits* 60, 33–40. <https://doi.org/10.1051/fruits:2005010>
- Abreu, F.P. de, Dornier, M., Dionisio, A.P., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dhuique-Mayer, C., 2013. Cashew apple (*Anacardium occidentale L.*) extract from by-product of juice processing: A focus on carotenoids. *Food Chem.* 138, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.028>
- Adetunji, L.R., Adekunle, A., Orsat, V., Raghavan, V., 2017. Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. *Food Hydrocoll.* 62, 239–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.015>
- Afifi, M.M., 2011. Naturally Occurring Microorganisms of Industrial Waste for Citric Acid Production by Solid State Fermentation. *J. Environ. Sci. Technol.* 4, 377–386. <https://doi.org/10.3923/jest.2011.377.386>
- Ali, S., Ul-Haq, I., Qadeer, M.A., Iqbal, J., 2002. Production of citric acid by *Aspergillus niger* using cane molasses in a stirred fermentor. *Electron. J. Biotechnol.* 5. <https://doi.org/10.2225/vol5-issue3-fulltext-3>
- Anastassiadis, S., Morgunov, I.G., Kamzolova, S.V., Finogenova, T.V., 2008. Citric acid production patent review. *Recent Pat. Biotechnol.* 2, 107–123.
- Angumeenal, A.R., Venkappayya, D., 2013. An overview of citric acid production. *LWT - Food Sci. Technol.* 50, 367–370. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.016>
- Antonopoulos, K., Valet, N., Spiratos, D., Siragakis, G., 2006. Olive oil and pomace olive oil processing. *Grasas Aceites* 57, 56–67.
- Anwar, F., Przybylski, R., Rudzinska, M., Gruczynska, E., Bain, J., 2008. Fatty Acid, Tocopherol and Sterol Compositions of Canadian Prairie Fruit Seed Lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85, 953–959. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1276-0>
- ARECA, 2016. Documents internes de l'Autorité de Régulation du Coton et de l'Anacarde de Côte d'Ivoire ARECA. Ministère L'Agriculture Répub. Côte D'Ivoire Abidj.

- Arshad, Z.I.M., Amid, A., Yusof, F., Jaswir, I., Ahmad, K., Loke, S.P., 2014. Bromelain: an overview of industrial application and purification strategies. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 7283–7297. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5889-y>
- Assunção, R.B., Mercadante, A.Z., 2003a. Carotenoids and ascorbic acid composition from commercial products of cashew apple (*Anacardium occidentale L.*). *J. Food Compos. Anal.* 16, 647–657. [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00098-X)
- Assunção, R.B., Mercadante, A.Z., 2003b. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale L.*): variety and geographic effects. *Food Chem.* 81, 495–502. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00477-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00477-6)
- Ates, S., Dingil, N., Bayraktar, E., Mehmetoglu, U., 2002. Enhancement of citric acid production by immobilized and freely suspended *Aspergillus niger* using silicone oil. *Process Biochem.* 38, 433–436. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00152-8](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00152-8)
- Baillie, C., 2005. *Green Composites: Polymer Composites and the Environment*. CRC Press.
- Bal'a, M.F., Marshall, D.L., 1998. Organic acid dipping of catfish fillets: effect on color, microbial load, and *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* 61, 1470–1474.
- Belard, L., 2009. *Eco-matériaux: Etat des lieux et perspectives - Les bioplastiques*. *Eco-matériaux: Etat des lieux et perspectives Forum International de la Plasturgie*, Lyon, 16 juin 2009.
- Bemish, T.A., Chiang, J.P.-C., Patwardhan, B.H., Solow, D.J., 1997. Préparation de l'acide citrique et de citrate trisodique à partir de mélasse. EP0597235 B1.
- Berovic, M., Legisa, M., 2007a. Citric acid production. *Biotechnol. Annu. Rev.* 13, 303–343. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(07\)13011-8](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(07)13011-8)
- Berovic, M., Legisa, M., 2007b. Citric acid production, in: El-Gewely, M.R. (Ed.), *Biotechnology Annual Review*. Elsevier, pp. 303–343.
- Bezalwar, P., Gomashe, A.V., Sanap, H.M., Gulhane, P.A., 2013. Production and optimization of citric acid by *Aspergillus niger* using fruit pulp waste. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2, 347–352.
- Bhushan, S., Gupta, M., 2013. Apple Pomace: Source of Dietary Fibre and Antioxidant for Food Fortification, in: Preedy, V.R., Srirajaskanthan, R., Patel, V.B. (Eds.), *Handbook of Food Fortification and Health*. Springer New York, New York, NY, pp. 21–27.
- Bhushan, S., Kalia, K., Sharma, M., Singh, B., Ahuja, P.S., 2008. Processing of Apple Pomace for Bioactive Molecules. *Crit. Rev. Biotechnol.* 28, 285–296. <https://doi.org/10.1080/07388550802368895>

- Borg, P., Lê, G., Lebrun, S., Pées, B., 2009. Example of industrial valorisation of derivative products of Castor oil. *Ol. Corps Gras Lipides* 16, 211–214. <https://doi.org/10.1051/ocl.2009.0276>
- Cakir, A., 2004. Essential oil and fatty acid composition of the fruits of *Hippophae rhamnoides* L. (*Sea Buckthorn*) and *Myrtus communis* L. from Turkey. *Biochem. Syst. Ecol.* 32, 809–816. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2003.11.010>
- Cashew Handbook, 2014. Global Cashew Market Overview.pdf. URL <http://www.gambiatradinginfo.org/sites/default/files/Global%20Cashew%20Market%20Overview.pdf> (accessed 1.6.17).
- Chabasse, D., Contet-Audonneau, N., Basile, A.-M., 2002. Cahier de Formation - Les moisissures d'intérêt médical. URL [http://www.biomycologie.com/images/conferences/dermatophytes\\_moisissures\\_dossier\\_2.pdf](http://www.biomycologie.com/images/conferences/dermatophytes_moisissures_dossier_2.pdf) (accessed 10.12.16).
- Chakrabarty, H.N., Sastry, L.V., Pruthi, J.S., 1977. Studies on the chemical composition and recovery of pectin from cashew apple waste (residue). *Journal Inst. Chem.* 45–52.
- Cheung, H., Ho, M., Lau, K., Cardona, F., Hui, D., 2009. Natural fibre-reinforced composites for bioengineering and environmental engineering applications. *Compos. Part B Eng., Natural fiber composites* 40, 655–663. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2009.04.014>
- Clark, D.S., Ito, K., Horitsu, H., 1966. Effect of manganese and other heavy metals on submerged citric acid fermentation of molasses. *Biotechnol. Bioeng.* 8, 465–471. <https://doi.org/10.1002/bit.260080402>
- CODEX ALIMENTARIUS, 2013. x9919f0e - CXS\_033f\_2015.pdf [WWW Document]. FAO. URL [file:///C:/Users/admin-lca/Downloads/CXS\\_033f\\_2015.pdf](file:///C:/Users/admin-lca/Downloads/CXS_033f_2015.pdf) (accessed 9.30.16).
- CODEX ALIMENTARIUS, 2009. ALINORM 01/17 - CXS\_210f\_2015.pdf [WWW Document]. URL [file:///C:/Users/admin-lca/Downloads/CXS\\_210f\\_2015.pdf](file:///C:/Users/admin-lca/Downloads/CXS_210f_2015.pdf) (accessed 9.30.16).
- Correia, J.A. da C., Júnior, J.E.M., Gonçalves, L.R.B., Rocha, M.V.P., 2013. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of cashew apple bagasse for ethanol production: Study of parameters. *Bioresour. Technol.* 139, 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.153>
- Costa, P.A. da, Ballus, C.A., Teixeira-Filho, J., Godoy, H.T., 2010. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. *Food Res. Int.* 43, 1603–1606. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.025>

- Crolla, A., Kennedy, K.J., 2004. Fed-batch production of citric acid by *Candida lipolytica* grown on n-paraffins. *J. Biotechnol.* 110, 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.01.007>
- Das, I., Arora, A., 2017. Post-harvest processing technology for cashew apple – A review. *J. Food Eng.* 194, 87–98. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.09.011>
- Dendena, B., Corsi, S., 2014. Cashew, from seed to market: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 753–772. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0240-7>
- Dhillon, G.S., 2012. Valorisation de déchets agro-industriels par bioproduction fongique d'un important produit de plate forme (l'acide citrique) avec extraction simultanée de chitosane. (phd). Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, Québec.
- Dhillon, G.S., Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., 2011. Utilization of different agro-industrial wastes for sustainable bioproduction of citric acid by *Aspergillus niger*. *Biochem. Eng. J.* 54, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.02.002>
- Dhillon, G.S., Kaur, S., Brar, S.K., Verma, M., 2013. Green synthesis approach: extraction of chitosan from fungus mycelia. *Crit. Rev. Biotechnol.* 33, 379–403. <https://doi.org/10.3109/07388551.2012.717217>
- DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Dulf, F.V., 2012. Fatty acids in berry lipids of six sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*, subspecies *carpatica*) cultivars grown in Romania. *Chem. Cent. J.* 6, 106. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-106>
- El-Gewely, M.R., 2007. *Biotechnology Annual Review*. Elsevier.
- Evon, P., 2008. Nouveau procédé de bioraffinage du tournesol plante entière par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeur bi-vis : étude de l'extraction aqueuse des lipides et de la mise en forme du raffinat en agromatériaux par thermomoulage. Toulouse, INPT.
- FAOSTAT, 2014. URL <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed 7.20.17).
- Fatima, T., Snyder, C.L., Schroeder, W.R., Cram, D., Datla, R., Wishart, D., Weselake, R.J., Krishna, P., 2012. Fatty Acid Composition of Developing Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) Berry and the Transcriptome of the Mature Seed. *PLoS ONE* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034099>

- Flávia, C. dos S.L., Luiz Honorato da Silva, F., Palmeira Gomes, J., Mariano da Silva Neto, J., 2012. Chemical Composition of the Cashew Apple Bagasse and Potential Use for Ethanol Production. *Adv. Chem. Eng. Sci.* 2, 519–523. <https://doi.org/10.4236/aces.2012.24064>
- Gancel, A.-L., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Ruales, J., Vaillant, F., 2008. Identifying carotenoids and phenolic compounds in naranjilla (*Solanum quitoense* Lam. var. Puyo hybrid), an Andean fruit. *J. Agric. Food Chem.* 56, 11890–11899. <https://doi.org/10.1021/jf801515p>
- Gao, J., Crapo, P.M., Wang, Y., 2006. Macroporous elastomeric scaffolds with extensive micropores for soft tissue engineering. *Tissue Eng.* 12, 917–925. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.12.917>
- Geneau, S.C., 2006. Procédé d'élaboration d'agromatériau composite naturel par extrusion bivis et injection moulage de tourteau de tournesol. Toulouse INPT.
- Giro, M.E.A., Martins, J.J.L., Rocha, M.V.P., Melo, V.M.M., Gonçalves, L.R.B., 2009. Clarified cashew apple juice as alternative raw material for biosurfactant production by *Bacillus subtilis* in a batch bioreactor. *Biotechnol. J.* 4, 738–747. <https://doi.org/10.1002/biot.200800296>
- Gómez-Caravaca, A.M., Verardo, V., Caboni, M.F., 2010. Chromatographic techniques for the determination of alkyl-phenols, tocopherols and other minor polar compounds in raw and roasted cold pressed cashew nut oils. *J. Chromatogr. A* 1217, 7411–7417. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.09.054>
- Gowthaman, M.K., Krishna, C., Moo-Young, M., 2001. Fungal solid state fermentation — an overview, in: Arora, G.G.K. and D.K. (Ed.), *Applied Mycology and Biotechnology, Agriculture and Food Production*. Elsevier, pp. 305–352.
- Grewal, H.S., Kalra, K.L., 1995. Fungal production of citric acid. *Biotechnol. Adv.* 13, 209–234. [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(95\)00002-8](https://doi.org/10.1016/0734-9750(95)00002-8)
- Hang, Y. d., Luh, B. s., Woodams, E. e., 1987. Microbial Production of Citric Acid by Solid State Fermentation of Kiwifruit Peel. *J. Food Sci.* 52, 226–227. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb14014.x>
- Hang, Y.D., Woodams, E.E., 1985. Grape pomace: A novel substrate for microbial production of citric acid. *Biotechnol. Lett.* 7, 253–254. <https://doi.org/10.1007/BF01042372>
- Hervé, A., Cosette, G., Michèle, G.-B., Fabienne, R.-B., Raphaëlle, T.-M., 2008. *Les bactéries lactiques en œnologie*. Lavoisier.

- Hossain, M., Brooks, J.D., Maddox, I.S., 1984. The effect of the sugar source on citric acid production by *Aspergillus niger*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 19, 393–397. <https://doi.org/10.1007/BF00454376>
- Humbert, J., 2008. Conception, élaboration et production d'agrocomposite à partir de tourteau de tournesol : étude du procédé d'extrusion-formulation-granulation et d'injection-moulage. Toulouse, INPT.
- Jarroux, N., 2008. Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications. URL <http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/innovation-th10/eco-conception-mise-en-uvre-et-applications-42650210/les-biopolymeres-differentes-familles-proprietes-et-applications-am3580/> (accessed 7.11.17).
- Jiang, Q., Elson-Schwab, I., Courtemanche, C., Ames, B.N., 2000.  $\gamma$ -Tocopherol and its major metabolite, in contrast to  $\alpha$ -tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97, 11494–11499. <https://doi.org/10.1073/pnas.200357097>
- John, M.J., Thomas, S., 2008. Biofibres and biocomposites. *Carbohydr. Polym.* 71, 343–364. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.040>
- Jung, S., Lee, S., Lee, H., Yoon, J., Lee, E.K., 2016. Oleic acid-embedded nanoliposome as a selective tumoricidal agent. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 146, 585–589. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.06.058>
- Kang, Y., Yang, J., Khan, S., Anissian, L., Ameer, G.A., 2006. A new biodegradable polyester elastomer for cartilage tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. A* 77, 331–339. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30607>
- Kareem, S.O., Akpan, I., Alebiowu, O.O., 2010. Production of citric acid by *Aspergillus niger* using pineapple waste. *Malays. J. Microbiol.* 6, 161–165.
- Karow, E.O., Waksman, S.A., 1947. Production of Citric Acid in Submerged Culture. *Ind. Eng. Chem.* 39, 821–825. <https://doi.org/10.1021/ie50451a004>
- Kavanagh, K., 2017. *Fungi: Biology and Applications*. John Wiley & Sons.
- Kertes, A.S., King, C.J., Harvey W. Blanch, I. by, 2009. Extraction chemistry of fermentation product carboxylic acids. *Biotechnol. Bioeng.* 103, 431–445. <https://doi.org/10.1002/bit.22375>
- Kiel, H., Guvrin, R., Henis, Y., 1981. Citric Acid Fermentation by *Aspergillus niger* on Low Sugar Concentrations and Cotton Waste. *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 1–4.

- Konan, C., Ricau, P., 2010. La filiere anacarde en Côte d'Ivoire acteurs et organisation. URL [http://www.rongead.org/IMG/pdf/Synthese\\_filiere\\_anacarde\\_Pierre\\_light.pdf](http://www.rongead.org/IMG/pdf/Synthese_filiere_anacarde_Pierre_light.pdf) (accessed 1.9.17).
- Kornsteiner, M., Wagner, K.-H., Elmadfa, I., 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chem.* 98, 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.033>
- Kristiansen, B., Linden, J., Matthey, M., 2002. *Citric Acid Biotechnology*. CRC Press.
- Kubicek, C.P., 1987. The role of the citric acid cycle in fungal organic acid fermentations. *Biochem. Soc. Symp.* 54, 113–126.
- Kubicek, C.P., Röhr, M., Rehm, H.J., 1985. Citric Acid Fermentation. *Crit. Rev. Biotechnol.* 3, 331–373. <https://doi.org/10.3109/07388558509150788>
- Kubicek, C.P., Zehentgruber, O., El-Kalak, H., Röhr, M., 1980. Regulation of citric acid production by oxygen: Effect of dissolved oxygen tension on adenylate levels and respiration in *Aspergillus niger*. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 9, 101–115. <https://doi.org/10.1007/BF00503505>
- Kuforiji, O., Kuboye, A.O., Odunfa, S.A., 2010. Orange and pineapple wastes as potential substrates for citric acid production. *Int. J. Plant Biol.* 1, 4. <https://doi.org/10.4081/pb.2010.e4>
- Kumar, D., Jain, V.K., Shanker, G., Srivastava, A., 2003. Citric acid production by solid state fermentation using sugarcane bagasse. *Process Biochem.* 38, 1731–1738. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00252-2](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00252-2)
- Kumar, D., Verma, R., Bhalla, T.C., 2010. Citric acid production by *Aspergillus niger* van. Tieghem MTCC 281 using waste apple pomace as a substrate. *J. Food Sci. Technol.* 47, 458–460. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0077-2>
- Latruffe, N., Bleicher-Bardeletti, F., Duclos, B., Vamecq, J., 2014. *Biochimie - Tout le cours en fiches: 200 fiches de cours, 200 QCM, sujets de synthèse et bonus web*. Dunod.
- Lautié, D., 2001. Les produits de l'anacardier: caractéristiques, voies de valorisation et marchés 235–248.
- Leangon, S., Maddox, I.S., Brooks, J.D., 2000. A proposed biochemical mechanism for citric acid accumulation by *Aspergillus niger* Yang No. 2 growing in solid state fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16, 271–275. <https://doi.org/10.1023/A:1008980816610>

- Leger, C.-L., 2000. La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardiovasculaire, biodisponibilité. *Ol. Corps Gras Lipides* 7, 258–265. <https://doi.org/10.1051/ocl.2000.0258>
- Legiša, M., Matthey, M., 1988. Citrate regulation of the change in carbohydrate degradation during the initial phase of the citric acid production by *Aspergillus niger*. *Enzyme Microb. Technol.* 10, 33–36. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(88\)90095-6](https://doi.org/10.1016/0141-0229(88)90095-6)
- Lu, M.Y., Maddox, I.S., Brooks, J.D., 1995. Citric acid production by *Aspergillus niger* in solid-substrate fermentation. *Bioresour. Technol.* 54, 235–239. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(95\)00131-X](https://doi.org/10.1016/0960-8524(95)00131-X)
- Macedo, M., Pinto Robrigues, R.D., Saavedra Pinto, G.A., de Brito, E.S., 2015. Influence of pectinolytic and cellulolytic enzyme complexes on cashew bagasse maceration in order to obtain carotenoids. *J. Food Sci. Technol.-Mysore* 52, 3689–3693. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1411-x>
- Magro, C., 1995. Valorisation des pailles de blé par fractionnement thermo-mécano-chimique dans un réacteur bivis. Toulouse, INPT.
- Majolli, M.V., Aguirre, S.N., 1999. [Effect of trace metals on cell morphology, enzyme activation, and production of citric acid in a strain of *Aspergillus wentii*. *Rev. Argent. Microbiol.* 31, 65–71.
- Marechal, P., 2001. Analyse des principaux facteurs impliqués dans le fractionnement combiné de pailles et de sons de blé en extrudeur bi-vis : obtention d'agro-matériaux. Toulouse, INPT.
- Martin, P.J., Topper, C.P., Bashiru, R.A., Boma, F., De Waal, D., Harries, H.C., Kasuga, L.J., Katanila, N., Kikoka, L.P., Lamboll, R., Maddison, A.C., Majule, A.E., Masawe, P.A., Millanzi, K.J., Nathaniels, N.Q., Shomari, S.H., Sijaona, M.E., Stathers, T., 1997. Cashew nut production in Tanzania: Constraints and progress through integrated crop management. *Crop Prot.* 16, 5–14. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(96\)00067-1](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(96)00067-1)
- Matthey, M., 1992. The production of organic acids. *Crit. Rev. Biotechnol.* 12, 87–132. <https://doi.org/10.3109/07388559209069189>
- Matthey, M., Bowes, I., 1978. Citrate regulation of NADP<sup>+</sup>-specific isocitrate dehydrogenase of *Aspergillus niger* [proceedings]. *Biochem. Soc. Trans.* 6, 1224–1226.
- Max, B., Salgado, J.M., Rodríguez, N., Cortés, S., Converti, A., Domínguez, J.M., 2010. Biotechnological production of citric acid. *Braz. J. Microbiol.* 41, 862–875. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400005>

- Mazaheri Asadi, M., Nikkhah, M., 2010. Production of Citric Acid from Date Pulp By Solid State Fermentation. *J. Agric. Sci. Technol.* 4, 119–125.
- Michodjehoun-Mestres, L., 2009. Etude des composés phénoliques de la pomme cajou (*Anacardium occidentale* L.). Dr. Univ. Montp. II.
- Moigne, N.L., 2008. Swelling and dissolution mechanisms of cellulose fibres (phdthesis). École Nationale Supérieure des Mines de Paris.
- Moretti, E., Filippone, F., 1996. Acide citrique par fermentation, in: *Techniques de L'ingénieur*.
- Morgant, V., 1988. Optimisation de la production d'acide citrique par *Aspergillus niger* avec un procédé de surface. Compiègne.
- Müller, H.M., 1975. Oxalate accumulation from citrate by *Aspergillus niger*. I. Biosynthesis of oxalate from its ultimate precursor. *Arch. Microbiol.* 103, 185–189.
- Naeini, A.T., Adeli, M., Vossoughi, M., 2010. Poly(citric acid)-block-poly(ethylene glycol) copolymers—new biocompatible hybrid materials for nanomedicine. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 6, 556–562. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.11.008>
- Nair, K.P.P., 2010. 2 - Cashew Nut (*Anacardium occidentale* L.), in: *The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing World*. Elsevier, London, pp. 21–66.
- Ngakegni, A.C.-L., 2012. Etude de synergie des effets chimiques et biologiques des lipides de réserve et des huiles essentielles des fruits et graines saisonniers de la sous-région Afrique Centrale. Toulouse, INPT.
- Ogunmoyela, O., 1983. Prospects of cashew apple processing and utilization of Nigeria. URL <http://www.academicjournals.org/journal/JSPPR/article-full-text-pdf/CDE4CF457310> (accessed 1.12.17).
- Orliac, O., 2002. Valorisation des protéines de tournesol : étude de leur comportement thermique, rhéologique et de leur réactivité chimique, application à la fabrication de nouveaux matériaux biodégradables. Toulouse, INPT.
- Oudet, C., 1994. *Polymères: structure et propriétés, introduction*. Masson.
- Pandey, A., 2003. Solid-state fermentation. *Biochem. Eng. J., Solid-State Fermentation* . 13, 81–84. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00121-3](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00121-3)
- Pandey, A., 1992. Recent process developments in solid-state fermentation. *Process Biochem.* 27, 109–117. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(92\)80017-W](https://doi.org/10.1016/0032-9592(92)80017-W)
- Pandey, A., Soccol, C.R., Mitchell, D., 2000. New developments in solid state fermentation: I- bioprocesses and products. *Process Biochem.* 35, 1153–1169. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(00\)00152-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00152-7)

- Papagianni, M., 2007. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: Biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnol. Adv.* 25, 244–263. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.01.002>
- Peter J. Williams, T.E.C., 2010. The production and use of citric acid for the removal of potassium from the iron ore concentrate of the Sishen Iron Ore Mine, South Africa. *South Afr. J. Sci. - AFR J SCI* 106. <https://doi.org/10.4102/sajs.v106i3/4.158>
- Peyrat, E., 2000. Nouveau composite biodégradable obtenu à partir de maïs plante entière : étude du procédé de transformation thermo-mécano-chimique en extrudeur bi-vis et de la mise en forme par injection-moulage. Toulouse, INPT.
- Piironen, V., Lindsay, D.G., Miettinen, T.A., Toivo, J., Lampi, A.-M., 2000. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 80, 939–966. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<939::AID-JSFA644>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<939::AID-JSFA644>3.0.CO;2-C)
- Porto de Souza, V.L., 2000. Développement d'un Procédé pour la Production d'Acide Citrique par Fermentation en Milieu Solide à partir de Résidus de l'Agro-Industrie du Manioc. Compiègne.
- Qiu, H., Yang, J., Kodali, P., Koh, J., Ameer, G.A., 2006. A citric acid-based hydroxyapatite composite for orthopedic implants. *Biomaterials* 27, 5845–5854. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.07.042>
- Quatresous, N., 2011. Aspergillose humaine. Épidémiologie, diagnostic biologique, contrôle. URL [https://www.google.fr/?gfe\\_rd=cr&ei=IU3-V-jaBu\\_t8wfB4IjYDQ&gws\\_rd=ssl#q=Aspergillose+humaine.+%C3%89pid%C3%A9miologie%2C+diagnostic+biologique%2C+contr%C3%B4le](https://www.google.fr/?gfe_rd=cr&ei=IU3-V-jaBu_t8wfB4IjYDQ&gws_rd=ssl#q=Aspergillose+humaine.+%C3%89pid%C3%A9miologie%2C+diagnostic+biologique%2C+contr%C3%B4le) (accessed 10.12.16).
- Raimbault, M., 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electron. J. Biotechnol.* 1, 26–27.
- Ramamoorthy, S.K., Skrifvars, M., Persson, A., 2015. A Review of Natural Fibers Used in Biocomposites: Plant, Animal and Regenerated Cellulose Fibers. *Polym. Rev.* 55, 107–162. <https://doi.org/10.1080/15583724.2014.971124>
- Ramesh, M., Palanikumar, K., Reddy, K.H., 2017. Plant fibre based bio-composites: Sustainable and renewable green materials. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 79, 558–584. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.094>
- Regazzi, A., 2013. Contribution à l'étude du vieillissement couplé thermo-hydro-mécanique de biocomposite PLA/lin (phdthesis). Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris.

- Rocha, A.S., Silva, F.L.H., Conrado, L.S., Lima, F.C.S., Carvalho, J.P.D., Santos, S.F.M., 2014. Ethanol From Cashew Apple Bagasse By Enzymatic Hydrolysis, in: Ranzi, E., KohseHoinghaus, K. (Eds.), Iconbm: International Conference on Biomass, Pts 1 and 2. Aidic Servizi Srl, Milano, pp. 361–366.
- Rocha, M.V.P., Rodrigues, T.H.S., de Albuquerque, T.L., Gonçalves, L.R.B., de Macedo, G.R., 2014. Evaluation of dilute acid pretreatment on cashew apple bagasse for ethanol and xylitol production. Chem. Eng. J. 243, 234–243. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.12.099>
- Rocha, M.V.P., Souza, M.C.M., Benedicto, S.C.L., Bezerra, M.S., Macedo, G.R., Pinto, G.A.S., Gonçalves, L.R.B., 2007. Production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* grown on cashew apple juice. Appl. Biochem. Biotechnol. 137–140, 185–194. <https://doi.org/10.1007/s12010-007-9050-6>
- Rodrigues, T.H.S., Dantas, M.A.A., Pinto, G.A.S., Goncalves, L.R.B., 2007. Tannase production by solid state fermentation of cashew apple bagasse. Appl. Biochem. Biotechnol. 137, 675–688. <https://doi.org/10.1007/s12010-007-9088-5>
- Rolere, S., Liengprayoon, S., Vaysse, L., Sainte-Beuve, J., Bonfils, F., 2015. Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously. Polym. Test. 43, 83–93. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2015.02.011>
- Romero-Gómez, S.J., Augur, C., Viniegra-González, G., 2000. Invertase production by *Aspergillus niger* in submerged and solid-state fermentation. Biotechnol. Lett. 22, 1255–1258. <https://doi.org/10.1023/A:1005659217932>
- Rouilly, A., 2002. Nouveaux agro-matériaux composites à matrice protéique ou polysaccharidique : étude du fractionnement, de la transformation et de la mise en forme par extrusion et par injection-moulage de la pulpe de betterave et du tourteau de tournesol. Toulouse, INPT.
- Rubin, I.I., 1973. Injection molding: theory and practice. Wiley.
- Ruiz-Méndez, M.V., Aguirre-González, M.R., Marmesat, S., 2013. Olive Oil Refining Process, in: Aparicio, R., Harwood, J. (Eds.), Handbook of Olive Oil. Springer US, pp. 715–738.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T.P., Maguire, A.R., O'Brien, N.M., 2007. Phytosterol, Squalene, Tocopherol Content and Fatty Acid Profile of Selected Seeds, Grains, and Legumes. Plant Foods Hum. Nutr. 62, 85–91. <https://doi.org/10.1007/s11130-007-0046-8>

- Saad Nadeem, I.A., 2014. Citric Acid Future Prospects for Pakistan, a Short Review. *Appl. Mech. Mater.* 625, 61–64. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.625.61>
- Santos, R.P., Santiago, A.A.X., Gadelha, C.A.A., Cajazeiras, J.B., Cavada, B.S., Martins, J.L., Oliveira, T.M., Bezerra, G.A., Santos, R.P., Freire, V.N., 2007. Production and characterization of the cashew (*Anacardium occidentale L.*) peduncle bagasse ashes. *J. Food Eng.* 79, 1432–1437. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.040>
- Sauer, M., Porro, D., Mattanovich, D., Branduardi, P., 2008. Microbial production of organic acids: expanding the markets. *Trends Biotechnol.* 26, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.11.006>
- Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J.C., Van Dijck, P.W.M., 2002. On the safety of *Aspergillus niger*-a review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 426–435. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1032-6>
- Schweiggert, R.M., Vargas, E., Conrad, J., Hempel, J., Gras, C.C., Ziegler, J.U., Mayer, A., Jiménez, V., Esquivel, P., Carle, R., 2016. Carotenoids, carotenoid esters, and anthocyanins of yellow-, orange-, and red-peeled cashew apples (*Anacardium occidentale L.*) *Food Chem.* 200, 274–282. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.038>
- Shojaosadati, S.A., Babaeipour, V., 2002. Citric acid production from apple pomace in multi-layer packed bed solid-state bioreactor. *Process Biochem.* 37, 909–914. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00294-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00294-1)
- Show, P.L., Oladele, K.O., Siew, Q.Y., Zakry, F.A.A., Lan, J.C.-W., Ling, T.C., 2015. Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*. *Front. Life Sci.* 8, 271–283. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1033653>
- Shu, P., Johnson, M.J., 1948a. The Interdependence of Medium Constituents in Citric Acid Production by Submerged Fermentation 1. *J. Bacteriol.* 56, 577–585.
- Shu, P., Johnson, M.J., 1948b. The Interdependence of Medium Constituents in Citric Acid Production by Submerged Fermentation 1. *J. Bacteriol.* 56, 577–585.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J., 2005. Spectrometric Identification of Organic Compounds, (accessed 10.21.17).
- Socol, R.C., Vandenberghe, P.S.L., Cristine, R., Ashok, P., 2006. New Perspectives for Citric Acid Production and Application. *Food Technol. Biotechnol. FTB J.* 44, 144–149.
- Sorho, S., Yaya, S., Amissa Augustin, A., Lemée, L., 2006. Fatty Acids and Unsaponifiable Composition of *Cucumis amaris* Seeds Oil. *J. Appl. Sci.* 6, 3167–3169.

- Soro, D., 2012. Couplage des procédés membranaires pour la clarification et la concentration du jus de pommes de cajou : performances et impacts sur la qualité des produits. Montpellier, SupAgro.
- Soro, D., Dornier, M., Abreu, F., Assidjo, E., Yao, B., Reynes, M., 2011. The cashew ( *Anacardium occidentale* ) industry in Côte d'Ivoire: analysis and prospects for development. *Fruits* 66, 237–245. <https://doi.org/10.1051/fruits/2011031>
- Spitzer, V., 1999. Screening analysis of unknown seed oils. *Lipid Fett* 101, 2–19. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4133](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4133)
- Sriamornsak, P., 2003. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. *Silpakorn Univ. Int. J.* 3, 206–228.
- Strasser, H., Burgstaller, W., Schinner, F., 1994. High-yield production of oxalic acid for metal leaching processes by *Aspergillus niger*. *FEMS Microbiol. Lett.* 119, 365–370. <https://doi.org/http://dx.doi.org/>
- Sundback, C.A., Shyu, J.Y., Wang, Y., Faquin, W.C., Langer, R.S., Vacanti, J.P., Hadlock, T.A., 2005. Biocompatibility analysis of poly(glycerol sebacate) as a nerve guide material. *Biomaterials* 26, 5454–5464. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.02.004>
- Tabuc, C., 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines.
- Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew, K.D., 2003. Phytosterols in the prevention of human pathologies. *Biomed. Pharmacother.* 57, 321–325. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(03\)00104-5](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(03)00104-5)
- Thakur, B.R., Singh, R.K., Handa, A.K., 1997. Chemistry and uses of pectin--a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37, 47–73. <https://doi.org/10.1080/10408399709527767>
- Tiago, L.A., Gomes, S.D.L., Marques Jr., J.E., Silva Jr., I.J. da, Rocha, M.V.P., 2015. Xylitol production from cashew apple bagasse by *Kluyveromyces marxianus* CCA510. *Catal. Today, Green Catalysis – 4th International Congress on Green Process Engineering (GPE2014; Sevilla, Spain, April 7–10, 2014)* 255, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2014.10.054>
- Torrado, A.M., Cortés, S., Salgado, J.M., Max, B., Rodríguez, N., Bibbins, B.P., Converti, A., Domínguez, J.M., 2011. Citric acid production from orange peel wastes by solid-state fermentation. *Braz. J. Microbiol.* 42, 394–409. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000100049>

- Toschi, T.G., Caboni, M.F., Penazzi, G., Lercker, G., Capella, P., 1993. A study on cashew nut oil composition. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70, 1017–1020. <https://doi.org/10.1007/BF02543029>
- Tran, C.T., Sly, L.I., Mitchell, D.A., 1998. Selection of a strain of *Aspergillus* for the production of citric acid from pineapple waste in solid-state fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14, 399–404. <https://doi.org/10.1023/A:1008821413239>
- Vandenberghe, L.P.S., Soccol, C.R., Pandey, A., Lebeault, J.-M., 1999. Microbial production of citric acid. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 42, 263–276. <https://doi.org/10.1590/S1516-89131999000300001>
- Veiga-Santos, P., Suzuki, C.K., Nery, K.F., Cereda, M.P., Scamparini, A.R.P., 2008. Evaluation of optical microscopy efficacy in evaluating cassava starch biofilms microstructure. *LWT - Food Sci. Technol.* 41, 1506–1513. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.09.011>
- Walter, R.H., 2012. *The Chemistry and Technology of Pectin*. Academic Press.
- Wang, S., Chen, F., Wu, J., Wang, Z., Liao, X., Hu, X., 2007. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *J. Food Eng.* 78, 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.008>
- West, T.P., 2013. Citric acid production by *Candida species* grown on a soy-based crude glycerol. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 43, 601–611. <https://doi.org/10.1080/10826068.2012.762929>
- Yang, J., Motlagh, D., Webb, A.R., Ameer, G.A., 2005. Novel biphasic elastomeric scaffold for small-diameter blood vessel tissue engineering. *Tissue Eng.* 11, 1876–1886. <https://doi.org/10.1089/ten.2005.11.1876>
- Yapo, B.M., Koffi, K.L., 2013. Extraction and Characterization of Highly Gelling Low Methoxy Pectin from Cashew Apple Pomace. *Foods* 3, 1–12. <https://doi.org/10.3390/foods3010001>

## ANNEXE

Tableau A1 : Courbe d'étalonnage d'acide citrique

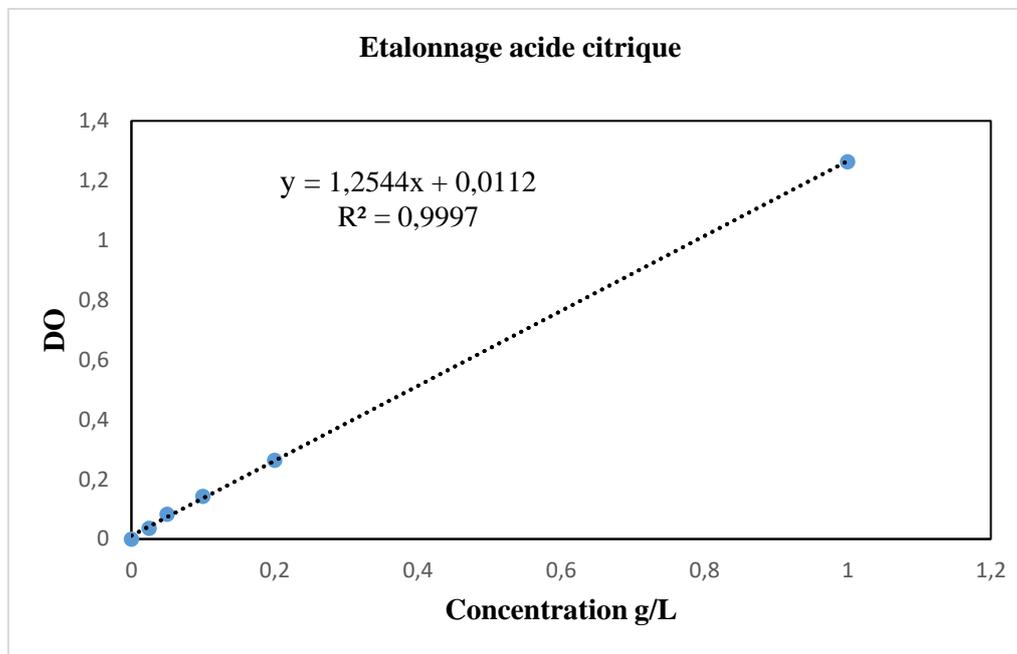


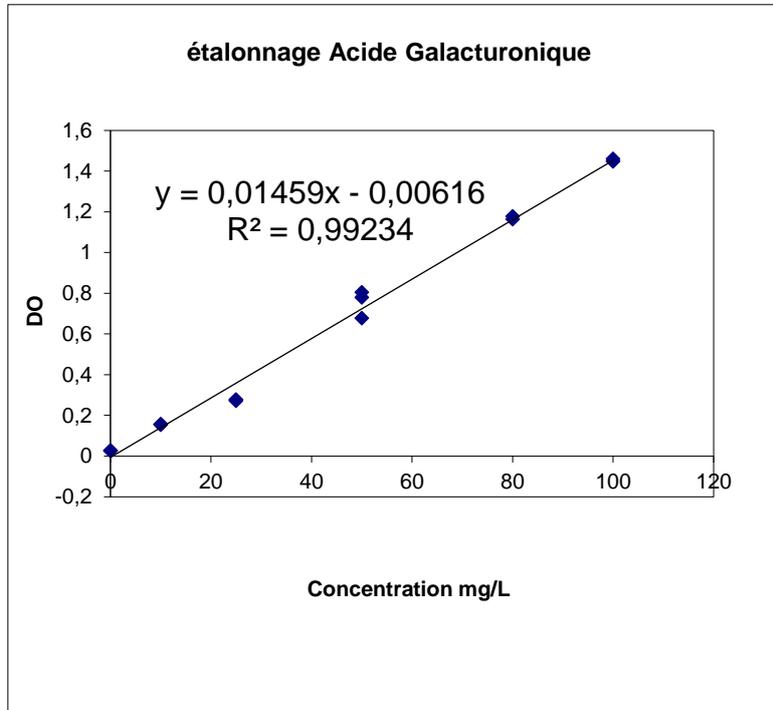
Tableau A2 : Variation de la concentration en acide citrique durant la fermentation (g/kg)

<b>Echantillon</b>	<b>0 J</b>	<b>3 Js</b>	<b>6 Js</b>	<b>9 Js</b>	<b>12 Js</b>
<b>Pulpe de papaye (PC)</b>	1,2	39,8	110,95	239,19	287,7
<b>Pulpe de mangue (MP)</b>	1,6	21,9	67,3	125,75	137,54
<b>Epluchure d'igname (IG)</b>	0,23	10,02	27,3	38,36	40,1
<b>Epluchure de patate (PD)</b>	0,45	19,65	80,6	87,68	76,445
<b>Pomme de cajou (AN)</b>	2,64	14,9	53,56	86,95	90,02

Tableau A3 : Variation du pH durant la fermentation

<b>Echantillon</b>	<b>0 J</b>	<b>3 Js</b>	<b>6 Js</b>	<b>9 Js</b>	<b>12 Js</b>
<b>Pulpe de papaye (PC)</b>	3,4	3,3	2,8	2,5	2,4
<b>Pulpe de mangue (MP)</b>	3,8	3,1	2,5	2,2	2,2
<b>Epluchure d'igname (IG)</b>	5,4	4,3	3,6	3,4	3,3
<b>Epluchure de patate (PD)</b>	5,2	3,9	3,17	2,1	2
<b>Pomme de cajou (AN)</b>	3,7	3,2	2,7	2,5	2,3

TableauA4 : Courbe d'étalonnage d'acide galacturanoïque



TableauA5 : Résultats globaux des tests d'immersion dans l'eau

	<b>10 min</b>	<b>30 min</b>	<b>45 min</b>	<b>90 min</b>	
<b>1</b>	épaisseur e (mm)	8,1600	8,2800	7,5600	7,9200
		7,5800	8,0900	7,6000	7,9600
		7,3700	8,1200	7,4300	7,9900
	e moyen	7,7033	8,1633	7,5300	7,9567
	largeur a (mm)	49,8800	49,7900	49,9800	49,9900
		49,8200	49,8500	49,9700	49,9700
		49,8900	49,8200	49,9500	49,9800
	a moyen	49,8633	49,8200	49,9667	49,9800
	masse g	24,4297	24,9941	24,7525	25,5267
	<b>2</b>	épaisseur e (mm)	7,4900	7,8300	8,1200
		7,9700	7,7100	8,0900	8,3200
		7,8500	8,1200	7,7700	8,1500
e moyen		7,7700	7,8867	7,9933	8,0033
largeur a (mm)		49,6300	49,5500	49,5800	49,6000
		49,5800	49,6700	49,7500	49,6800
		49,6100	49,5500	49,6800	49,6400
a moyen		49,6067	49,5900	49,6700	49,6400
masse g		24,4566	23,6872	24,2722	23,3871
<b>3</b>		épaisseur e (mm)	7,9200	7,3800	7,2400
		7,9400	7,5000	7,3100	7,5500
		7,8640	7,6500	7,4100	7,4800
	e moyen	7,9080	7,5100	7,3200	7,3967
	largeur a (mm)	49,6300	49,7400	49,7500	49,7800
		49,8700	49,8500	49,9000	49,9300
		49,6100	49,7800	49,8000	49,8500
	a moyen	49,7033	49,7900	49,8167	49,8533
	masse g	24,0855	24,0919	24,1024	23,8362
	<b>4</b>	épaisseur e (mm)	7,8000	7,5600	7,5300
		7,6200	7,6200	7,3000	7,9700
		7,5700	7,5700	7,6000	7,7100
e moyen		7,6633	7,5833	7,4767	7,7933
largeur a (mm)		50,1000	50,1200	50,1900	49,9300
		50,0800	50,0700	50,0700	49,8900

		50,0600	50,1400	50,2100	50,0200	
	a moyen	50,0800	50,1100	50,1567	49,9467	
	masse g	25,1647	25,2867	24,9457	25,4481	
5	épaisseur e (mm)	7,6900	7,7100	7,7500	7,4500	
		7,5400	7,7900	7,5700	7,6400	
		7,3700	7,7600	7,7600	7,5300	
	e moyen	7,5333	7,7533	7,6933	7,5400	
	largeur a (mm)	50,1200	50,5100	50,4100	50,1100	
		50,0800	50,4100	50,4700	50,0700	
		50,0600	50,4200	50,5100	50,1800	
	a moyen	50,0867	50,4467	50,4633	50,1200	
	masse g	25,1837	25,5391	25,2504	25,3939	
		épaisseur e (mm)	7,6200	7,6400	7,9900	7,7300
6		7,2900	7,5900	7,6800	7,6200	
		7,5400	7,3800	7,4900	7,6400	
	e moyen	7,4833	7,5367	7,7200	7,6633	
	largeur a (mm)	50,1000	50,1400	50,1800	50,0700	
		50,1400	50,1700	50,2300	50,0700	
		50,1500	50,3300	50,1300	50,0600	
	a moyen	50,1300	50,2133	50,1800	50,0667	
	masse g	25,1647	25,1384	25,5667	25,3041	
		épaisseur e (mm)	7,8500	7,9400	7,3900	7,8600
	7		7,8500	7,9700	7,5500	7,4100
		7,8700	8,2000	7,6400	7,7500	
e moyen		7,8567	8,0367	7,5267	7,6733	
largeur a (mm)		49,8800	49,7500	49,9500	49,9100	
		49,9200	49,8000	49,8100	49,9200	
		49,7700	49,7700	49,9200	49,0000	
a moyen		49,8567	49,7733	49,8933	49,6100	
masse g		24,5086	24,5272	24,8556	24,8270	
		épaisseur e (mm)	7,2500	7,6200	7,6100	7,4400
8			7,6100	7,6600	7,5100	7,8200
		8,0800	7,6300	7,5800	7,5600	
	e moyen	7,6467	7,6367	7,5667	7,6067	
	largeur a (mm)	49,9400	49,9400	50,0500	49,9400	
		50,0000	49,9400	50,0200	49,9200	

	49,9900	49,9000	50,0400	49,9000
a moyen	49,9767	49,9267	50,0367	49,9200
masse g	24,6647	24,9090	24,7860	24,8795

## RESUME

La Côte d'Ivoire connaît de très grands succès sur le marché de l'exportation agricole et génère aussi d'importants sous-produits. Dans cette étude, 17 de ses sous-produits agricoles ont fait l'objet d'une valorisation consacrée à l'obtention d'acide citrique avec une caractérisation de la bagasse de pomme de cajou pour la conception d'agromatériaux à partir de cette bagasse. Au niveau des fruits, les pulpes de la papaye (*Carica papaya*) et de mangue de variété Adams (*Mangifera indica*) ont donné les meilleures teneurs en acide citrique respectivement de 287,70 g/kg et 137,54 g/kg. Au niveau des amylacés, les épluchures de la patate douce (*Ipomoea batatas*) ont donné la meilleure teneur (88 g/kg). La pomme de cajou (*Anacardium occidentale*) a une production moyenne d'acide citrique (90,02 g/kg). Les caractéristiques physico-chimiques (polysaccharides, lipides, protéines et pectines) de la bagasse de pomme de cajou ont permis de montrer que, quelle que soit la variété de la pomme (rouge ou jaune) ou la partie de la bagasse étudiée (peau ou pulpe), la composition lignocellulosique était dominée par les hémicelluloses. Les teneurs dans ces derniers ont de  $41,12\% \pm 0,24\%$  pour la pulpe de la pomme de cajou (P), de  $51,65\% \pm 0,11\%$  pour la pomme de cajou à peau rouge (R) et de  $51,1\% \pm 0,18\%$  pour la pomme de cajou à peau jaune (J). Les résultats de la fraction lipidique ont révélé la prédominance des acides gras insaturés. On note aussi la présence de divers types de phytostérols dans cette avec une teneur doublement importante dans la pulpe que dans la peau de pomme de cajou. Enfin, la conception d'agromatériaux à base de bagasse de pomme de cajou par thermopressage fut réalisée. Des tests d'immersion et de flexion ont permis de trouver le couple température/pression adéquat ( $170^{\circ}\text{C}/116$  bars) pour la conception d'agromatériaux.

## ABSTRACT

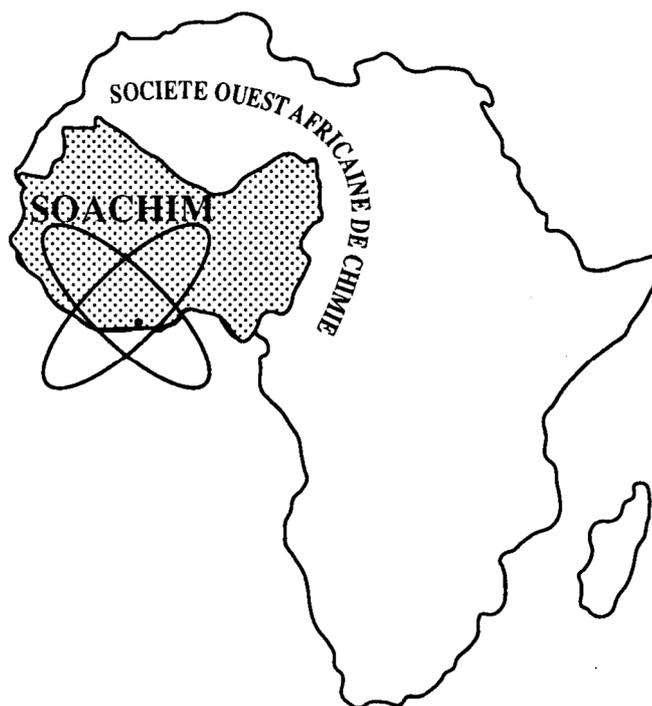
Côte d'Ivoire is very successful in the agricultural export market and generates important by-products. In this study, 17 of its agricultural by-products were the subject of a valuation devoted to obtaining citric acid with a characterization of the cashew bagasse for the design of agromaterials from this bagasse. The pulp of papaya (*Carica papaya*) and mango variety Adams (*Mangifera indica*) gave the best citric acid contents respectively of 287.70 g / kg and 137.54 g / kg. In the case of starchy foods, peelings of sweet potato (*Ipomoea batatas*) gave the highest content (88 g / kg). The cashew apple (Western *Anacardium*) has an average production of citric acid (90.02 g / kg). The physicochemical characteristics (polysaccharides, lipids, proteins and pectins) of the cashew apple bagasse have shown that regardless of the variety of the apple (red or yellow) or part of the bagasse studied (skin or pulp), the lignocellulosic composition was dominated by hemicelluloses. The contents in the latter are 41.12%  $\pm$  0.24% for the cashew apple pulp (P), 51.65%  $\pm$  0.11% for the red-skinned cashew apple (R) and 51.1%  $\pm$  0.18% for yellow-skinned cashew (J). The results of the lipid fraction revealed the predominance of unsaturated fatty acids. There is also the presence of various types of phytosterols in this with a doubly important content in the pulp than in the cashew skin. Finally, the design of agromaterials based on cashew bagasse by thermopressing was carried out. Immersion and bending tests have found the appropriate temperature / pressure pair (170 ° C / 116 bar) for the design of agromaterials.

# *Valorisation des déchets d'agroressources par bioproduction d'acide citrique*

**Esaïe Kouadio Appiah Kouassi, Yaya Soro, Carlos Vaca-Garcia,  
Benjamin Yao Kouassi**

*Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*

*J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*(2017), 044 : 36 - 42  
22<sup>ème</sup> Année, Décembre 2017



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2

Cote INIST (CNRS France) : <27680>

Site Web: <http://www.soachim.org>

## Valorisation des déchets d'agroressources par bioproduction d'acide citrique

Esaïe Kouadio Appiah Kouassi<sup>1,2</sup>, Yaya Soro<sup>2\*</sup>, Carlos Vaca-Garcia<sup>1</sup>,  
Benjamin Yao Kouassi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (LCA), Université de Toulouse, INRA, INPT, 4 allée Emile Monso – BP 44362-31030 Toulouse cedex 4, France.

<sup>2</sup>Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Félix HOUPOUËT-BOIGNY, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

(Reçu le 27/11/2017 – Accepté après corrections le 30/12/ 2017)

**Résumé :** Une étude sur la production d'acide citrique à partir de divers déchets de fruits et d'amylacés a été entreprise pour leurs potentielles valorisations. Les résultats obtenus pour les fruits montrent que les pulpes de la papaye (*Carica papaya*), du fruit de la passion (*Passiflora edulis*) et de la mirabelle (*Prunus domestica*) donnent les meilleurs rapports des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés avec des valeurs respectives de 0,58 ; 0,63 et 0,77 ainsi que des quantités d'acide citrique produites respectives de 72,5 ; 91,3 et 61,6 g/kg. Pour les amylacés, l'épluchure de la patate douce (*Ipomoea batatas*) présente la meilleure production d'acide citrique et le meilleur rapport des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés avec des valeurs respectives de 16,7 g/kg et 0,28. De façon générale, les teneurs en acide citrique, inférieures à 50g/kg pendant les trois premiers jours de fermentation évoluent vers des valeurs de 100-287 g/kg au douzième jour. L'étude de la variation du potentiel Hydrogène montre qu'il décroît rapidement au cours de la fermentation des différents déchets.

**Mots clés :** Acide citrique, déchet, agroressource, fermentation, potentiel Hydrogène, *Aspergillus niger*

## Valorization of agroresources waste by bioproduction of citric acid

**Abstract:** A study on the production of citric acid from various fruit and starch wastes was performed for their potential valorization. The results obtained for the fruits show that the pulp of the papaya (*Carica papaya*), the passion fruit (*Passiflora edulis*) and the mirabelle fruit (*Prunus domestica*) gave the best ratios of the citric acid contents on the quantity of total sugars consumed with respective values of 0.58; 0.63 and 0.77 and respectively produced citric acid amounts of 72.5; 91, 3 and 61.6 g/kg. For starchy foods, sweet potato peels (*Ipomoea batatas*) had the best citric acid production and the best ratio of the citric acid contents on the quantity of total sugars consumed with respective values of 16.7g / kg and 0.28g. In general, the citric acid contents, lower than 50 g/kg during the first three days of fermentation evolve to values of 100-287 g/kg on the twelfth day. The study of the Hydrogen potential variation shows that it decreases rapidly during the various wastes fermentation.

**Key words:** Citric acid, waste, agroresource, fermentation, Hydrogen potential, *Aspergillus niger*

---

\* Auteur correspondant : Soro Yaya : [soro\\_y@yahoo.fr](mailto:soro_y@yahoo.fr)

## 1. Introduction

L'acide citrique (AC) est un acide organique très important en industrie alimentaire et pharmaceutique. Il a été mondialement reconnu comme « GRAS » (*Generally Recognized As Safe*) par une commission mixte FAO/OMS d'experts en additifs alimentaires. Il est utilisé à 70% dans l'alimentation, 12% dans l'industrie pharmaceutique et 18% dans les autres secteurs<sup>[1]</sup>. En raison de ses nombreuses applications, sa demande et sa production ne cessent d'augmenter. Ainsi, la production mondiale de l'acide citrique est passée de 500 000 tonnes en 1992<sup>[2]</sup> à 1,8 million de tonnes en 2011<sup>[3]</sup>. Au regard de cette demande toujours croissante, il est opportun de rechercher des substrats peu coûteux et écologiquement intéressants pour la production de cet acide.

Dans la région subsaharienne, des sous-produits agricoles sont abandonnés dans les champs et dans la nature, polluant ainsi les sols et les cours d'eau. C'est le cas de la Côte d'Ivoire où environ sept (7) millions de tonnes de pommes de cajou sont peu valorisées<sup>[4,5]</sup>. Ces déchets bruts peuvent être utilisés sans aucune supplémentation en nutriments par les champignons tels que *Aspergillus niger* qui sont capables de produire des acides organiques à partir de sucres fermentescibles qui se retrouvent dans certains fruits et plantes amylacées<sup>[3]</sup>. En effet, ce germe fongique est capable de croître sur divers déchets agricoles solides<sup>[5,6]</sup> pour la production de composés à haute valeur ajoutée, tels que l'acide citrique. Ce germe pourrait donc être utilisé pour la production d'acide citrique à partir des grandes quantités de déchets de fruits et d'amylacés générés par une agriculture de plus en plus performante.

La présente étude vise à produire de l'acide citrique à partir des déchets d'agroressources rencontrés en Côte d'Ivoire par leur fermentation en milieu solide en utilisant *Aspergillus niger* comme inoculum dans les différents substrats.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de fruits et de plantes amylacées. Pour les fruits, il est constitué des peaux d'Ananas (*Ananas comosus*) et de Banane douce (*Musa acuminata*), de la pomme de Cajou (*Anacardium occidentale*), du râpée de noix de coco (*Cocos nucifera*), des pulpes de Corossol (*Annona muricata*), du fruit de la Passion (*Passiflora edulis*), de Mandarine (*Citrus reticulata*), de Mangue fibreuse de variété Adams (*Mangifera indica*), de

Mirabelle (*Prunus domestica*), d'orange (*Citrus sinensis*), de pamplemousse (*Citrus maxima*), de papaye (*Carica papaya*) et de pastèque (*Citrullus lanatus*). Pour les plantes amylacées, le matériel végétal est constitué des épluchures de banane plantain (*Musa ×paradisica*), d'igname (*Dioscorea rotundata*), de manioc (*Manihot esculenta*), de patate douce (*Ipomoea batatas*) et de pomme de terre (*Solanum tuberosum*). Le matériel végétal a été acheté sur le marché de la ville de Yamoussoukro (6°53'04.7'' Nord et 5°13'54.9'' Ouest) au centre de la Côte d'Ivoire ou récolté dans des champs de Yamoussoukro. L'ensemble du matériel a été identifié par M. Amani N'Guessan, botaniste à l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro. Ils sont sans défauts visuels sauf la banane hors circuit commercial qui est en voie de décomposition. Après la collecte, le matériel végétal a été transporté au laboratoire et lavé à l'eau de robinet en vue d'éliminer toutes les impuretés physiques (matières organiques et poussière).

### 2.2. Matériel biologique

La souche fongique de référence du genre *Aspergillus* (*Aspergillus niger* NRRL 567) utilisée est issue de la banque des souches internationales Northern Utilization Research and Development - United States (NRRL 567) du laboratoire Centre Eau Terre Environnement (ETE) de l'Institut National de Recherche Scientifique (INRS) de l'Université du Québec. Elle est stockée au laboratoire à 4 ± 1°C pour les futures utilisations. Un repiquage est réalisé une fois par mois.

### 2.3. Préparation des substrats

Les peaux, les pulpes et les épluchures ont été retirées délicatement à la main ou avec un couteau et broyées à l'aide d'un broyeur électrique de marque IKA M20 jusqu'à l'obtention d'une pâte qui est utilisée immédiatement.

### 2.4. Préparation des milieux de culture

La préparation de l'inoculum a consisté en la préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar) auquel est ajouté du chloramphénicol qui permet d'éliminer les bactéries. Pour ce faire, 200 g de pommes de terre ont été nettoyés puis découpés en petits cubes et ajoutés à un litre d'eau distillée. L'ensemble a été porté à ébullition pendant une heure et après la cuisson, le mélange a été filtré sur un filtre alimentaire. L'Agar a été dissous à chaud dans le jus de pomme de terre puis le dextrose et le

chloramphénicol ont été ajoutés. Enfin, le potentiel Hydrogène (pH) du milieu a été ajusté à 5,5 puis le milieu a été stérilisé à l'autoclave à 110°C pendant 15 minutes.

## 2.5. Culture de la souche fongique

La souche d'*Aspergillus niger* a été ensemencée directement, dans des conditions stériles, dans des boîtes de pétri de 90 cm de diamètre pouvant contenir 10 mL du milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Après une semaine d'incubation à 30°C, des spores sont apparues à la surface du tapis mycélien. Ils ont été récupérés dans de l'eau distillée stérile à l'aide d'une raclette puis ont été dénombrés à l'aide de la cellule de Thomas. La suspension fongique a été ensuite diluée pour obtenir une concentration d'environ 10<sup>7</sup> spores/mL.

## 2.6. Préparation des milieux de fermentation

Pour le test de criblage, une masse de 50 g de patte de chaque échantillon a été prélevée et puis stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes (pour le test de production la masse a été de 500 g). Ce traitement suffit pour éliminer la charge microbienne du moût et diminuer donc la compétition entre celle-ci et le champignon (*A. niger*) sans provoquer la dégradation et la caramélisation des sucres.

## 2.7. Dosage des sucres totaux extractibles par l'éthanol

Les sucres totaux extractibles par l'éthanol ont été extraits puis dosés selon la méthode décrite par Dubois et al. [7]. Une masse d'un gramme d'échantillon est homogénéisée au vortex dans 10 mL d'éthanol à 80%. L'opération est répétée deux fois puis les surnageant résultant sont rassemblés. Un volume de 2 mL de solution d'acétate de plomb à 10% est ajouté et l'ensemble est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Le surnageant est récupéré et 2 mL d'une solution d'acide oxalique à 5% sont ajoutés. L'ensemble est encore centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes et le surnageant est récupéré dans une fiole de 25 mL. L'excès d'éthanol est évaporé sur un bain de sable et le volume résultant est complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. Les sucres totaux

extractibles par l'éthanol sont finalement dosés selon la méthode décrite par Dubois et al. [7].

## 2.8. Détermination du potentiel Hydrogène

La détermination du potentiel Hydrogène (pH) est essentielle pour le contrôle des milieux, avant et après la fermentation. Sa variation renseigne sur l'activité métabolique du champignon, donc sur la transformation des sucres en citrates. Pour la mesure du pH des milieux, 1 g de chaque échantillon a été prélevé et dissous dans 5 mL d'eau distillée. Le mélange a ensuite été centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Le surnageant a été récupéré et le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre de marque HANNA HI 8424 préalablement étalonné [8]. L'électrode est plongée dans la solution et l'appareil affiche numériquement la valeur du pH.

## 2.9. Dosage de l'acide citrique

L'acide citrique a été dosé selon la méthode de Marier et Boulet modifiée par Dhillon pour une transmission de 100% [9]. Le principe consiste en la mise en œuvre d'une réaction de coloration sous l'action combinée de la pyridine et de l'anhydride acétique à 32°C, en présence d'acide citrique. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en citrate. La densité optique est lue au spectrophotomètre UV à une longueur d'onde de 420 nm.

Pour le dosage de l'acide citrique, 2,5 g des différents milieux fermentés ont été prélevés et dissous dans 12,5 mL d'eau distillée. L'ensemble a été homogénéisé à l'aide d'un vortex et centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. A 1 mL du mélange résultant, ont été ajoutés 1,3 mL de pyridine et 5,7 mL d'anhydride acétique puis l'ensemble est placé immédiatement dans un bain à 22°C pendant 30 minutes. La coloration du mélange obtenue est lue au spectrophotomètre UV et la courbe d'étalonnage de l'acide citrique préalablement établie (figure 1) permet de calculer la concentration de la solution en acide citrique, exprimée en g/kg, selon la formule de la relation 1 [9] :

$$C = \frac{C_l \times V}{m} \quad (1)$$

Dans cette formule,  $C$ ,  $C_l$ ,  $V$  et  $m$  représentent respectivement la concentration réelle d'acide citrique (en g/kg), la concentration d'acide citrique lue au spectrophotomètre en (g/L), le volume de récupération (en L) et la masse du substrat fermenté (en kg).

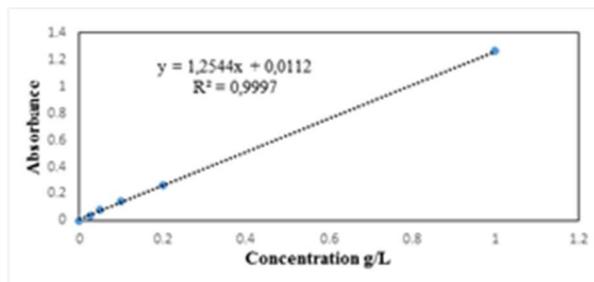


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide citrique

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Tests de criblage

##### 3.1.1. Déchets de fruits sucrés

La production d'acide citrique à partir des échantillons de déchets de fruits sucrés est présentée dans le **Tableau I** où cette production peut être comparée au taux de consommation du sucre.

Les résultats du **tableau I** montrent que les déchets de fruits sucrés ne produisent pas les mêmes quantités d'acide citrique. La peau d'ananas présente la plus faible teneur en acide citrique (6,7 g/kg) et la pulpe du fruit de la passion donne la plus grande teneur (91,3 g/kg). En comparant les rapports de la teneur en acide citrique sur la quantité de sucres consommés (**Figure**), les pulpes de la papaye, du fruit de la passion et de la mirabelle donnent les meilleurs résultats avec des valeurs respectives de 0,58 ; 0,63 et 0,77. Leurs productions en acide citrique respectives de 72,5 ; 91,3 et 61,6 g/kg sont supérieures à celles de Kareem et al. <sup>[6]</sup>, d' Afifi et al. <sup>[10]</sup>, de Kumar et al. <sup>[11]</sup> et de Bezalwar et al. <sup>[12]</sup> qui sont respectivement de 32,7 g/kg pour les déchets industriels de pomme de terre, de 60,6 g/kg pour les déchets d'ananas enrichis à 15% (p/v) de saccharose,

de 46 g/kg pour les déchets de pomme et de 3,75 g/kg pour la pulpe de papaye.

De ces trois déchets de fruits (papaye, fruit de la passion et mirabelle), seule la papaye pose un véritable problème de valorisation urgente en Côte d'Ivoire. En effet, les deux autres ont une production nationale très faible par rapport à la celle papaye qui périe rapidement à maturité.

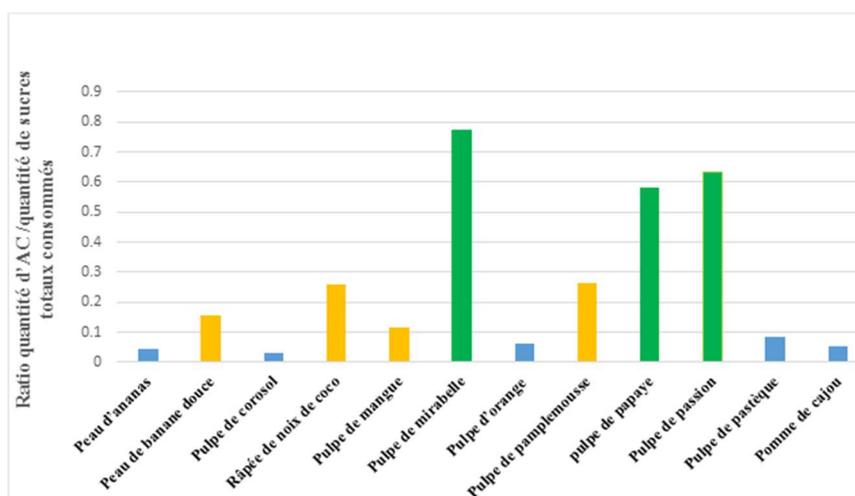
Les pulpes de mangue et de pamplemousse, le râpé de la noix de coco et la peau de banane douce ont des valeurs moyennes (supérieur à 0,1 et inférieur à 0,3) du rapport des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés. Cependant, la mangue de la variété Adams utilisée dans cette étude peut-être avantageusement valorisée. En effet, les fibres rendent difficile sa consommation et son petit calibre constitue un frein pour sa valorisation industrielle comparée aux autres variétés de mangues plus grosses et plus juteuses.

Les pulpes de corossol, d'orange et de pastèque ainsi que la peau d'ananas et la pomme de cajou donnent les plus faibles teneurs en acide citrique avec des rapports des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés inférieurs à 0,1. Pourtant, la Côte d'Ivoire est le premier producteur et exportateur de noix de cajou. Hormis la noix qui est exportée, la pomme est abandonnée dans les champs et notre étude pourrait constituer une voie de sa valorisation.

Pour les déchets de fruits sucrés, la pomme de cajou, la mangue de variété Adams et la papaye hors circuit commerciale, représentant chacun des trois groupes, seront utilisées dans la suite de l'étude pour la production d'acide citrique.

**Tableau I:** Teneurs en sucres totaux (g/kg) des déchets de fruits sucrés et en acide citrique (g/kg) lors de la fermentation en milieu solide avec *Aspergillus niger*

Echantillons	Teneurs en Sucres totaux avant la fermentation (g/kg)	Teneurs en Sucres totaux après la fermentation (g/kg)	Teneurs en acide citrique (g/kg)	Ratio teneurs en acide citrique /sucres totaux consommés
Peau d'ananas	221,7	70,0	6,8	0,04
Peau de banane douce	366,2	136,3	36,0	0,16
Pulpe de corossol	450,0	26,9	13,2	0,03
Râpée de noix de coco	73,3	19,2	14,0	0,26
Pulpe de mangue	478,3	370,2	12,6	0,12
Pulpe de mirabelle	188,3	108,8	61,6	0,77
Pulpe d'orange	228,3	46,8	11,0	0,06
Pulpe de pamplemousse	240,0	150,2	23,5	0,26
Pulpe de papaye	440,0	314,8	72,5	0,58
Pulpe de passion	383,3	239,5	91,3	0,63
Pulpe de pastèque	203,3	11,6	15,9	0,08
Pomme de cajou	346,7	78,6	13,6	0,05



**Figure 2:** Rapports des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés pour les déchets de fruits sucrés

### 3.1.2. Déchets amylacés

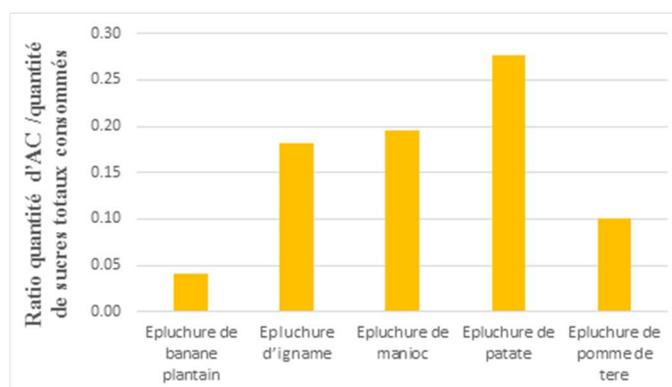
La production d'acide citrique à partir d'échantillons de déchets amylacés est présentée dans le **tableau II**.

L'épluchure de patate présente la meilleure production d'acide citrique et le meilleur rapport des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés parmi les déchets amylacés avec des valeurs respectives de 16,7 g/kg et 0,28 (tableau 2 et figure 3). La banane plantain hors circuit commercial a la plus faible teneur en acide citrique

(4,72 g/kg) et le plus faible rapport des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés (0,04). Les épluchures d'igname et de manioc ont sensiblement les mêmes résultats (8,2-8,4 g/kg et 0,18-0,19). La Côte d'Ivoire est un grand producteur et consommateur d'igname et de manioc. Les déchets de ces derniers sont très rependus sur tout le territoire ivoirien. Cependant, seules l'igname et la patate seront étudiées dans la suite de notre travail, le manioc ayant déjà fait l'objet de quelques travaux <sup>[13]</sup>.

**Tableau II:** Teneurs en sucres totaux (g/kg) des déchets amylacés et en acide citrique (g/kg) lors de la fermentation en milieu solide avec *Aspergillus niger*

Echantillons	Teneurs en Sucres totaux avant la fermentation (g/kg)	Teneurs en Sucres totaux après la fermentation (g/kg)	Teneurs en acide citrique (g/kg)	Ratio teneurs en acide citrique /sucres totaux consommés
Epluchure de banane plantain	243,3	127,4	4,7	0,04
Epluchure d'igname	60,0	13,5	8,4	0,18
Epluchure de manioc	56,7	14,4	8,2	0,19
Epluchure de patate	121,7	61,2	16,7	0,28
Epluchure de pomme de terre	88,3	22,1	6,6	0,10



**Figure 3:** Rapports des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés pour les déchets amylacés

En comparant les résultats des **tableaux I et II**, nous remarquons que de façon générale, les fruits produisent plus d'acide citrique que les amylacés. Ce qui pourrait justifier les nombreuses l'utilisation des fruits dans la littérature pour la production d'acide citrique au détriment des amylacés.

### 3.2 Production d'acide citrique

Contrairement à la phase de criblage où la durée de la fermentation était de 3 jours, dans la suite de ce travail, les fermentations seront toujours réalisées en milieu solide mais avec une durée de 12 jours.

Au cours de la fermentation, les paramètres externes tels que la température de l'étuve (29°C) et l'oxygénation du milieu ont été contrôlés et maîtrisés. Par contre, les paramètres internes (évolution du pH du milieu et croissance du mycélium) sont relatifs au type de substrats. Hormis la croissance du mycélium, les valeurs du pH ont été déterminées tous les trois jours durant la fermentation dont la fin est marquée par la présence de substances blanches qui recouvrent toute la surface du milieu. Le mycélium quant à lui devient vieux et produit de la poudre. La surface de départ qui avait la couleur du substrat devient tout à fait noire avec une présence importante de substances blanches.

#### 3.2.1. Variation de la teneur en acide citrique

Les variations de la teneur en acide citrique des déchets de pulpes de papaye (PC), de mangue (MP), de la pomme de cajou (AN) ainsi que d'épluchures d'igname (IC) et de la patate douce (PD) au cours de la fermentation sont présentées dans la figure 4.

Les courbes de la figure 4 montrent que la production d'acide citrique augmente avec le temps. De façon générale, elle est faible pendant les trois premiers jours. Elle augmente jusqu'au 9<sup>ème</sup> avant de connaître une stabilité jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour pour la pulpe de mangue (MP), l'épluchure d'igname (IC) et la pomme de cajou (AN) ; une augmentation pour la

pulpe de papaye (PC) et une diminution pour l'épluchure de la patate douce (PD).

La pulpe de papaye (PC) produit la plus grande quantité d'acide citrique (287,7 g/kg) au 12<sup>ème</sup> jour alors que l'épluchure d'igname (IC) produit la plus faible quantité d'acide citrique durant cette même période.

Excepté la pomme de cajou, les résultats des déchets de fruits sucrés sont relativement les mêmes que ceux des épluchures de kiwi 100 g/kg [14], des résidus de raisin 112 g/kg [15] et des déchets de pomme 127,9 g/kg [8]. Cependant, les teneurs en acide citrique obtenues à partir des déchets amylacés se rapprochent de celles obtenues avec le taros (66 g/kg) [16].

#### 3.2.2. Variation du potentiel hydrogène du milieu durant la fermentation

Les variations du potentiel Hydrogène du milieu durant la fermentation des déchets de pulpes de papaye (PC), de mangue (MP), de la pomme de cajou (AN) ainsi que d'épluchures d'igname (IC) et de la patate douce (PD) sont présentées dans la figure 5.

Après 12 jours de fermentation, la figure 5 montre une baisse considérable des valeurs de potentiel Hydrogène. Le milieu de fermentation de la patate (PD) enregistre la plus grande baisse de pH allant de 5,2 à 2 et la plus faible baisse est obtenue avec la pulpe de papaye (PC) passant de 3,4 à 2,4. De telles variations de pH ont été observées par Show et al. [5], Dhillon et al. [9] et Grewal et al. [17]. En effet, les sucres contenus dans les différents substrats sont utilisés comme source de carbone par *Aspergillus niger* qui les transforme progressivement en acide citrique. Une fois produit, ce dernier, de par ses propriétés, acidifie le milieu d'où la baisse progressive du pH. Cependant, cette baisse de pH n'affecte pas les champignons filamenteux dont *Aspergillus niger* qui peuvent croître sur une large gamme de pH allant de 2 à 9, avec une gamme optimale de 3,8 à 6,0 [18].

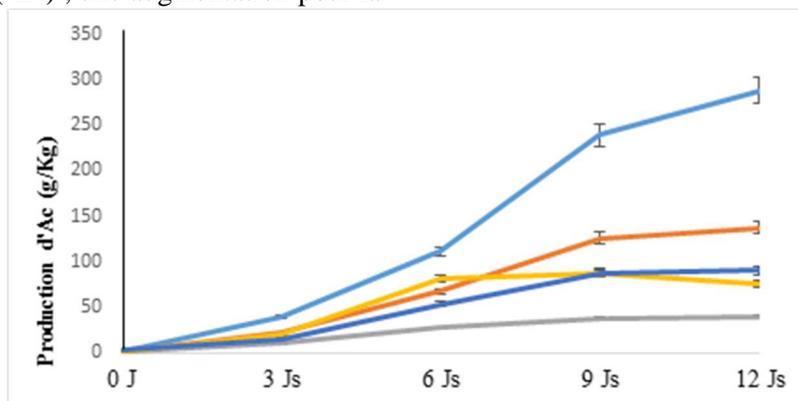


Figure 4 : Variation de la teneur en acide citrique des déchets de fruits et d'amylacés durant la fermentation

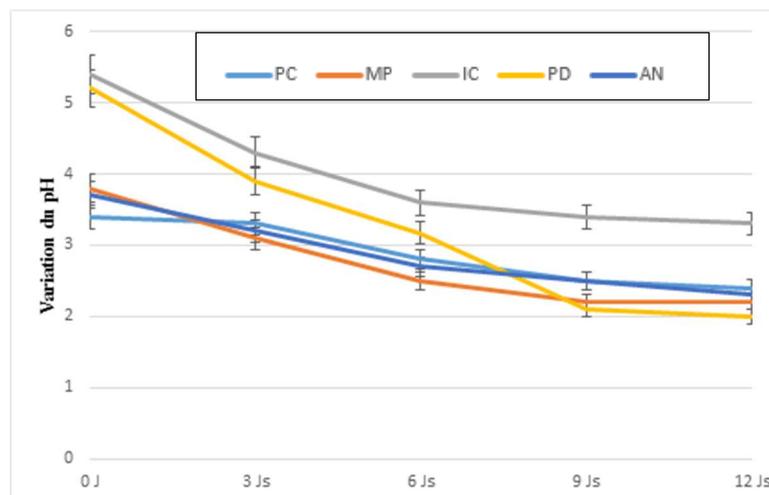


Figure 5 : Variation du potentiel Hydrogène du milieu durant la fermentation des déchets de fruits et d'amylacés

#### 4. Conclusion

Au terme de cette étude, il ressort que les pulpes de la papaye et de la mangue de variété Adams sont des sources potentielles de production d'acide citrique parmi les fruits sucrés avec des valeurs respectives de 287,70 g/kg et 137,54 g/kg alors que l'épluchure de la patate douce est la meilleure source de production de cet acide pour les déchets amylacés avec une valeur de 87,68 g/kg. La production d'acide citrique entraîne une baisse du potentiel Hydrogène du milieu. Les faibles productions d'acide citrique pourraient être liées à la présence de certains métaux inhibiteurs de la croissance de *Aspergillus niger* et une étude est en cours de réalisation dans ce sens.

#### 5. Remerciements

Les auteurs remercient les professeurs Patrick Drogui, Satinder K. Brar et Rajeshwar D. Tyagi, tous les trois membres du laboratoire Centre Eau Terre Environnement (ETE) de l'Institut National de Recherche Scientifique (INRS) de l'Université du Québec, pour avoir mis à notre disposition la souche de référence de *Aspergillus niger* utilisée dans cette étude.

#### 6. Références bibliographiques

[1] Soccol RC, Vandenberghe PSL, Cristine R, Ashok P. New Perspectives for Citric Acid Production and Application. Food Technol. Biotechnol. FTB J. (2006) 44, 144–149.  
 [2] Matthey M. The production of organic acids. Crit. Rev. Biotechnol. (1992) 12, 87–132.  
 [3] Saad Nadeem I A. Citric Acid Future Prospects for Pakistan, a Short Review. Appl. Mech. Mater. (2014) 625, 61–64.  
 [4] ARECA. Documents internes de l'Autorité de Régulation du Coton et de l'Anacarde de Côte d'Ivoire ARECA. Ministère L'Agriculture Répub (2016). Côte D'Ivoire Abidjan.  
 [5] Show PL, Oladele KO, Siew QY, Zakry FA A, Lan JCW, Ling TC. Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*. Front. Life Sci. (2015) 8, 271–283.

[6] Kareem SO, Akpan I, Alebiowu OO. Production of citric acid by *Aspergillus niger* using pineapple waste. Malays. J. Microbiol. (2010) 6, 161–165.  
 [7] Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers P A, Smith F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal. Chem. (1956) 28, 350–356.  
 [8] Dhillon GS. Valorisation de déchets agro-industriels par bioproduction fongique d'un important produit de plate forme (l'acide citrique) avec extraction simultanée de chitosane., phd, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, Québec. (2012) pp 480.  
 [9] Dhillon GS, Brar SK, Verma M, Tyagi RD. Utilization of different agro-industrial wastes for sustainable bioproduction of citric acid by *Aspergillus niger*. Biochem. Eng. J. (2011) 54, 83–92.  
 [10] Afifi MM. Naturally Occurring Microorganisms of Industrial Waste for Citric Acid Production by Solid State Fermentation. J. Environ. Sci. Technol. (2011) 4, 377–386.  
 [11] Kumar D, Verma R, Bhalla TC. Citric acid production by *Aspergillus niger* van. Tieghem MTCC 281 using waste apple pomace as a substrate. J. Food Sci. Technol. (2010) 47, 458–460.  
 [12] Bezalwar P, Gomashe AV, Sanap HM, Gulhane PA. Production and optimization of citric acid by *Aspergillus niger* using fruit pulp waste. Int J Curr Microbiol App Sci. (2013) 2, 347–352.  
 [13] Porto de Souza VL. Développement d'un Procédé pour la Production d'Acide Citrique par Fermentation en Milieu Solide à partir de Résidus de l'Agro-Industrie du Manioc, Compiègne (2000) pp 212.  
 [14] Hang YD, Luh BS, Woodams EE. Microbial Production of Citric Acid by Solid State Fermentation of Kiwifruit Peel. J. Food Sci. (1987) 52, 226–227.  
 [15] Hang YD, Woodams EE. Grape pomace: A novel substrate for microbial production of citric acid. Biotechnol. Lett. (1985) 7, 253–254.  
 [16] Lu MY, Maddox IS, Brooks JD. Citric acid production by *Aspergillus niger* in solid-substrate fermentation. Bioresour. Technol. (1995) 54, 235–239.  
 [17] Grewal HS, Kalra KL. Fungal production of citric acid. Biotechnol. Adv. (1995) 13, 209–234.  
 [18] Rimbault M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Electron. J. Biotechnol. (1998) 1, 26–27.

## CHEMICAL COMPOSITION AND SPECIFIC LIPIDS PROFILE OF THE CASHEW APPLE BAGASSE

KOUASSI Esaïe Kouadio Appiah<sup>1,2</sup>, SORO Yaya<sup>1\*</sup>, VACA-GARCIA Carlos<sup>2</sup>  
and YAO Kouassi Benjamin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies,  
Nouvelles, Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, BP 1093  
Yamoussoukro (Côte d'Ivoire)

<sup>2</sup>Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (LCA), Université de Toulouse, INRA, INPT,  
Toulouse (France).

\* E-mail : soro\_y@yahoo.fr

---

### ABSTRACT

Cashew bagasse is a non-upgraded agricultural byproduct. In this study, three categories of samples consist of red apple skin (R), yellow apple skin (Y), and a mixture of the pulps (P) from the two varieties. The skins were carefully removed by hand, and then washed with distilled water until obtaining a wash water with zero sugar content and then dried in a room protected from sunlight at room temperature. Finally, the dried samples were ground and screened through a sieve of 1 mm mesh and then stored in a hydroclimatic chamber. The lipids from the three samples were Soxhlet-extracted with hexane. The physicochemical characterizations gave: (i) moistures rate of 8.26 to 9.27% from the dry matter, (ii) cellulose content from 18 to 19.92%, (iii) content of lignin, hemicellulose, pectin, protein and lipids respectively from 3.65 to 4.98%, 41.12 to 51.65%, 8.56 to 10.11%, 16.31 to 18.20% and 7.59 to 12.06 %. The fatty acid profile of the lipid extracts revealed a majority of oleic (64.10 to 64.69%) and palmitic (19.36 to 20.77%) acids. The glyceric profile revealed free fatty acids, monoglycerides, diglycerides and triglycerides with contents of 44.06 to 57.11%, 1.55 to 3.71%, 19.77 to 26.84 % and 23.73 to 29.29 % respectively.

**Keywords:** cashew apple bagasse, skin, lipids, fatty acids, valuation, chemical composition.

© RASAYAN. All rights reserved

---

### INTRODUCTION

Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) is grown for its economic potential in several countries around the world<sup>1</sup>. World production of cashew nuts was 3.7 million tons in 2014<sup>2</sup>. Brazil which has the long been the leader with 95% of the world production<sup>3</sup>, is now overtaken by Côte d'Ivoire, which produced over 531 488 tons of cashew nuts in 2014<sup>2</sup>. The cashew apple is 9-10 times heavier than the nut<sup>4</sup> and nearly 7 million tons of cashew apples was produced in Côte d'Ivoire in 2015<sup>5</sup>. Cashew apple bagasse represents approximately 20% of the weight of this apple<sup>3,6</sup>. This lignocellulosic material has been the subject of a few studies in Brazil for its conversion into second-generation bioethanol and more recently for xylitol production<sup>6-8</sup>. According to other studies, the juice is very rich in vitamin C, in polyphenolic compounds and has a very diversified carotenoids profile<sup>1,9</sup>. Contrary to Brazil, where cashew apple juice is used in the food sector, cashew apple is abandoned in the fields in Côte d'Ivoire with loss of the intrinsic value<sup>10</sup>. In recent years, our laboratory has been studying the valorization of waste from agro-resources where bioactive compounds have been isolated and identified from kernel seed cake of the mango (*Mangifera indica* Lam)<sup>11</sup>. In order to find chemical substances of great interest for the valorization of the cashew apple bagasse, we describe in this study its chemical composition and specific lipids profile. To the best of our knowledge, such a study has not been undertaken on cashew apple from Côte d'Ivoire.

### EXPERIMENTAL

#### Plant Materials

The plant material used consists of very mature red and yellow cashew apples harvested in a cultivated field of 11 hectares near Yamoussoukro, in the center of Côte d'Ivoire. The nuts were manually removed and the apples were immediately used.

### Preparation of the Samples

After collection, the skins were carefully extracted by hand and the three samples obtained consist of red skin (R), yellow skin (Y) and a mixture of the pulps (P) from the two varieties. The samples thus obtained were rapidly washed twice in distilled water at 60 °C, and then several times with distilled water at room temperature until the wash water was clear from sugar (°Brix 0), and then spread on a surface to air-dry in a room protected from light at room temperature (26±2 °C). Finally, the dried samples were ground and screened through a mesh of diameter less than 1 mm and then stored in a hydroclimatic chamber at 40 °C and relative humidity of 60%.

### General Procedure

#### Chemicals and standards

Hexane for HPLC (97% GC purity), trimethylsulphonium hydroxide (TMSH) (0.2 mol/L solution in methanol), and tert-butyl methyl ether (MTBE) HPLC grade were respectively purchased from Sigma-Aldrich and Macherey-Nagel Scharlau Spain. They were stored at 4°C and used without further purification.

#### Characterization of Cashew Apple Bagasse

The water and volatiles content in the samples were determined according to French standard NF T 60-201. A mass of 5.0 g of the dry matter is taken to an oven at 105 ± 2 °C overnight. After removal from the oven, the sample is cooled in the desiccator and then weighed until the mass of the sample is stabilized. For the determination of ash content and organic matter, the samples were heated at 550 °C for 6 hours. The standards NF V 18-100 and NF V05-128 were used to determine the protein and pectin contents. The contents of lignin, hemicellulose and cellulose were determined using the Van Soest and Wine ADF/NDF method<sup>12</sup>. The acid, iodine and saponification indices were respectively determined according to the NF EN ISO 660; NF EN ISO 3961 and NF EN ISO 3657 standards. All experiments were carried out in triplicate. The extraction of the specific lipids was carried out by the Soxhlet method using hexane for 7 hours (NF V03-908). The solvent was removed at 60 °C with a rotavapor and the resulting extract was stored in a colored hermetically closed bottle in obscurity at 4 °C until analysis.

The fatty acid profile was determined by gas chromatography. Oil (20 mg) was dissolved in 1 mL of tert-butyl methyl ether. Then 50 µg reagents were added to 100 µL of this solution<sup>13</sup>. Fatty acids (FAs) analyses were carried out on a Varian gas chromatograph. The analyzes were carried out under the conditions described by Elaloui et al.<sup>14</sup>

Triacylglycerols (TAG), diacylglycerols (DAG), monoacylglycerols (MAG) and free fatty acids (FFA) were separated by size exclusion chromatography according to standard NF EN ISO 17059. It was carried out by gas chromatography coupled to a flame ionization detector. Their profiles were obtained by gas chromatography coupled to a flame ionization detector. Compounds were identified by comparison of retention times with reference standards and quantification was performed by internal calibration. For this analysis, the characteristics of gas chromatograph (Perkin Elmer) coupled to the ionization detector were as follows: the carrier gas (helium at 15 psi pressure at the column head), the column (Rtx-5 (Restek) length 15 m, internal diameter 0.32 mm, film thickness 0.25 µm), injection into the column (1 µL, temperature at 55 °C for 0.5 min, then 200 °C/min to 340 °C and finally maintained at 340 °C for 40 min), the oven (temperature at 55 °C for 0.5 min, then 45 °C/min to 80 °C and finally 10 °C/min to 360 °C for 16 min) and the FID (temperature at 365 °C).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Physicochemical Characterization of the Cashew Apple Bagasse

The results in Table 1 show that the water and volatiles content of the samples (P), (R) and (Y) are respectively 8.26 ± 0.01%, 9.27% ± 0.03% and 9.07 ± 0.06 of the dry matter. These results are substantially consistent (or identical) with those of Flávia et al.<sup>15</sup>, which was 9.29% ± 0.07% on Brazilian cashew apple bagasse. The small amount of water and volatiles still present in this matrix could give it a long shelf life and reduce the growth of microorganisms<sup>16</sup>. The protein contents of the samples range from 16.31 ± 0.08%

to  $18.20 \pm 0.02\%$  for samples (P) and (Y) respectively. These values are higher than those of Lautié<sup>17</sup> which range from 7 to 8%. These differences could be due to the geographical area of cultivation of these cashew apples and could lead to a new chemotype.

The cellulose contents range from  $18.00 \pm 0.61\%$  to  $19.92 \pm 0.36\%$  for (R) and (Y), respectively. These contents are similar to those of Correia et al.<sup>6</sup> and Flávia et al.<sup>15</sup>, which are  $20.56 \pm 2.10\%$  and  $18.31 \pm 0.07\%$ . The hemicellulose contents range from  $41.12 \pm 0.24\%$  to  $51.65 \pm 0.11\%$  for (P) and (R), respectively. The Samples contain large quantities of hemicellulose compared to those of Correia et al.<sup>6</sup>, Rocha et al.<sup>7</sup> and Flávia et al.<sup>15</sup>, which range from  $8.20 \pm 0.07\%$  to  $27.18 \pm 0.01\%$ .

The lignin contents range from  $3.65 \pm 0.24\%$  for (Y) to  $4.86 \pm 0.23\%$  for (P). These values are very low compared to those of Correia et al.<sup>6</sup>, Rocha et al.<sup>7</sup> and Flávia et al.<sup>15</sup>, which vary between  $23.91\% \pm 0.02\%$  and  $35.26 \pm 0.9\%$ . However, the lignin contents of cashew apple bagasse are much higher than those of Rice Husk where optimized content represents only  $1.79\%$ <sup>18</sup>.

All three samples have pectin contents in the range of  $8.56 \pm 0.39\%$  for (Y) and  $10.11 \pm 0.48\%$  for (R). These values are substantially equivalent to one another. The pectin content in the apples bagasse usually varies between 10 and 15%<sup>19-21</sup>. The use of pectin is increasing and apple pudding remains one of the main sources of supply<sup>19,22</sup>. Bagasse of cashew apple, left at the harvest site as agricultural waste, could constitute a new source of pectin in the development of green products containing pectin. Indeed, fruit pectin is used today as gelling, thickening, texturing, emulsifiers and stabilizers agents in food processing, and in cosmetics and pharmaceutical industries<sup>19,22-24</sup>. Due to its ability to bind heavy metals, pectin is used as a detoxifying agent<sup>25</sup>. The cashew apple bagasse could, therefore, be used in the treatment of water loaded with heavy metals and this study is currently being carried out in the Ivorian laboratory.

Table-1: The Physicochemical Characterization of the Cashew Apple Bagasse. The Chemical Composition of the Samples is given on a Dry Matter Basis (g/100 g of Dry Sample)

Parameters Analysed	P	R	Y
Water and Volatiles	$8.26 \pm 0.01$	$9.27 \pm 0.03$	$9.07 \pm 0.06$
Ash Content	$3.71 \pm 0.11$	$2.22 \pm 0.06$	$2.20 \pm 0.09$
Protein	$16.31 \pm 0.08$	$16.83 \pm 0.05$	$18.20 \pm 0.02$
Lipids	$7.59 \pm 0.37$	$10.47 \pm 0.05$	$12.06 \pm 0.23$
Pectin	$9.28 \pm 0.77$	$10.11 \pm 0.48$	$8.56 \pm 0.39$
Cellulose	$19.19 \pm 0.30$	$18.00 \pm 0.61$	$19.92 \pm 0.36$
Hemicellulose	$41.12 \pm 0.24$	$51.65 \pm 0.11$	$51.10 \pm 0.18$
Lignin	$4.86 \pm 0.23$	$4.27 \pm 0.41$	$3.65 \pm 0.24$
pH	$4.30 \pm 0.01$	$4.30 \pm 0.01$	$4.40 \pm 0.02$

### Fatty Acid Composition of Cashew Apple Bagasse

The lipid content ranges from  $7.59\% \pm 0.37\%$  for (P) to  $12.06\% \pm 0.23\%$  for Y (Table-1). These results show that the lipid content is higher in the skin than the pulp. We did not find a study in the literature on lipids from cashew apple bagasse as this study is new. The results in Table-2 show that these lipids are mainly unsaturated, this fraction represents  $77.05 \pm 0.60\%$ ,  $77.26 \pm 0.01\%$  and  $75.64 \pm 0.07\%$  respectively for (P), (R) and (Y). The various fatty acids found in the lipids of the samples are found in olive pomace oils, *Hippophae rhamnoides* L. pulp<sup>26-29</sup> and seeds of *Cucumis amaris*<sup>30</sup>.

The fatty acid profile shows that the oleic and palmitic acids are the most abundant in the samples with respectively  $64.44 \pm 0.06\%$  and  $19.36 \pm 0.12\%$  for (P);  $64.10 \pm 0.33\%$  and  $20.61 \pm 0.33\%$  for (R);  $64.69 \pm 0.15\%$  and  $20.77 \pm 0.01\%$  for (Y). Oleic acid, with its many applications in the food industry, could be used as a tumoricidal agent<sup>31</sup>.

Palmitic acid is used to produce soaps, cosmetics and release agents and the production of palm oil greatly affects the environment and animals. Cashew apple bagasse could, therefore, be an alternative source of

production of this fatty acid as well as “METI” MUSSELS (*Batissa violacea* L. von Lamarck, 1818) which contains 30% of palmitic acid<sup>32</sup>.

Table-2: Fatty Acid Composition of Cashew Apple Bagasse

Fatty acids		P %	R %	Y %
Saturated				
C16:0	Palmitic	19.36 ± 0.12	20.61 ± 0.33	20.77 ± 0.01
C18:0	Stearic	2.35 ± 0.16	2.56 ± 0.40	1.98 ± 0.02
C20:0	Arachidic	0.44 ± 0.02	0.76 ± 0.03	0.66 ± 0.01
C22:0	Behenic	0.80 ± 0.01	0.81 ± 0.01	0.95 ± 0.26
Total		22.94 ± 0.08	24.73 ± 0.19	24.34 ± 0.07
Unsaturated				
C16:1n7c	Palmitoleic	1.33 ± 0.03	1.29 ± 0.04	1.45 ± 0.01
C18:1n7c		3.94 ± 0.04	3.65 ± 0.11	3.69 ± 0.04
C18:1n9c	Oleic	64.44 ± 0.06	64.10 ± 0.33	64.69 ± 0.15
C18:2n6c	Linoleic	2.29 ± 0.06	2.15 ± 0.06	1.80 ± 0.01
C18:3n3a	Linolenic	2.43 ± 0.03	1.90 ± 0.13	1.75 ± 0.01
C20:1n9c	Eicosenoic	2.65 ± 0.01	2.20 ± 0.16	2.30 ± 0.02
Total		77.06 ± 0.04	75.27 ± 0.19	75.66 ± 0.04

### Composition of Glycerol Profile of Cashew Apple Bagasse

The results in Table-3 show that the lipids from cashew apple bagasse are rich in free fatty acids (FFA) in the range of 44.06 to 57.11% in the total fraction. This represents an opportunity in the valuation of cashew apple bagasse. Indeed, most of the lipids are in the form of triglycerides and obtaining the free fatty acids requires saponification. As the national cashew apple production in Côte d'Ivoire was more than 7 million tons in 2015<sup>6</sup>, the potential FFA could represent 9 000 tons per year.

Table-3: Composition of Glycerol Profile of Cashew Apple Bagasse

Acylglycerols		P	R	Y
FFA	Free Fatty Acids total*	11.44	12.55	18.14
	% of General Total**	45.71	44.06	57.11
MAG	Total Monoglycerides*	0.93	0.45	0.49
	% of General Total**	3.71	1.59	1.55
DAG	Total Diglycerides*	6.72	7.14	6.28
	% of General Total**	26.84	25.07	19.77
TAG	Total Triglycerides*	5.94	8.34	6.85
	% of General Total**	23.74	29.29	21.58
General Total		25.03	28.48	31.77

\* grams per 100 g of lipid extract

\*\* grams per 100 g of total glycerides

## CONCLUSION

This study showed that the cashew apple bagasse abounds several chemical compounds to be valued. The skins and pulp have substantially the same physicochemical characteristics.

The varieties of apples of yellow and red color do not show enough differences in the parameters analyzed. The quantities of pectins in the bagasse and of fatty acids in the lipids show that this agro-resource has a high potential for recovery. The study of the different types of pectins contained in this bagasse is being carried out in our laboratory.

## ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank Muriel Cerny (an LCA technician) and the “Ministère des Affaires Étrangères de France” for fellowship fund for some of us.

## REFERENCES

1. F.P. Abreu, D. Manuel, P.D. Ana, C. Michel, C.V. Catherine and D.M. Claudie, *Food Chemistry*, **138** (1), 25(2013).
2. FOASTAT, [www.fao.org/faostat](http://www.fao.org/faostat)
3. R.P. Santos, A.A.X. Santiago, C.A.A. Gadelha, J.B. Cajazeiras, B.S. Cavada, J.L. Martins, T.M. Oliveira, G.A. Bezerra, R.P. Santos and V.N. Freire, *Journal of Food Engineering*, **79** (4), 1432(2007).
4. D. Soro, M. Dornier, F. Abreu, E. Assidjo, B. Yao, and M. Reynes. *Fruits*, **66** (4), 237(2011).
5. ARECA. Documents Internes de l’Autorité de Régulation Du Coton et de l’Anacarde de Côte d’Ivoire, Abidjan, (2016).
6. J.A.C. Correia, E.M.J. José, B.L. Rocha and V.P.R. Maria, *Bioresource Technology*, **139**, 249 (2013).
7. M.V.P. Rocha, H.R. Tigressa, L.A. Tiago, R.B.G. Luciana and R.M. Gorete, *Chemical Engineering Journal*, **243**, 234(2014).
8. T.H.S. Rodrigues, A.A.D. Maria, A.S.P. Gustavo and R.B.G. Luciana, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **137–140** (1–12), 675(2007).
9. R.B. Assunção and Z.M. Adriana, *Journal of Food Composition and Analysis*, **16** (6), 647(2003).
10. A.B. Aboh, J.T. Dougnon, G.S.T. Atchade and A.M. Tandjiekpon, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **5** (6), 2407(2011).
11. A.B.B. Kassi, Y. Soro, B. Fanté, K.J. Golly, S. Sorho, A.S. Touré and J.-M. Coustard, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **8**(4), 1885(2014).
12. P.J. Van Soest and R.H. Wine, *Agric. Biol. Environm. Sci.*, **16**, 12 (1979).
13. W. Butte, *Journal of Chromatography*, **261**, 142(1983).
14. M. Elaloui, A. Laamouri, A. Albouchi, M. Cerny, C. Mathieu, G. Vilarem and B. Hasnaoui, *Emir. J. Food Agric.*, **26** (7), 602(2014).
15. C.S.L. Flávia, L.H.S. Flávio, P.G. Josivanda and M.S.N. José, *Advances in Chemical Engineering and Science*, **2** (04), 519(2012).
16. S. Ates, D. Nesrin, E. Bayraktar and M. Ulku, *Process Biochemistry*, **38** (3), 433(2002).
17. D. Lautié, *Les Produits de L’anacardier : Caractéristiques, Voies de Valorisation et Marchés*, Fruits edition (2001).
18. A. Ma’ruf, B. Pramudono and N. Aryanti, *Rasāyan J. Chem* , **10** (2), 407(2017).
19. L.R. Adetunji, A. Ademola, O. Valérie and R. Vijaya, *Food Hydrocolloids*, **62**, 239(2017).
20. S. Wang, C. Fang, W. Jihong, W. Zhengfu, L. Xiaojun and H. Xiaosong, *Journal of Food Engineering*, **78** (2), 693(2007).
21. S. Bhushan and G. Mahesh, Apple Pomace: Source of Dietary Fibre and Antioxidant for Food Fortification. In Handbook of Food Fortification and Health, edited by Victor R. Preedy, Rajaventhana Srirajskanthan, and Vinood B. Patel, New York, NY: Springer New York, 21(2013).
22. S. Bhushan, K. Kalpana, S. Madhu, S. Bikram and P.S. Ahuja, *Critical Reviews in Biotechnology*, **28** (4), 285(2008).
23. B.R. Thakur, R.K. Singh and A.K. Handa, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **37** (1), 47(1997).
24. P. Sriamornsak, *Journal of Silpakorn University*, **22**, 60(2002).

25. E.T. Talgatov, A.S. Auezkhanova, U.N. Kapysheva, S.K. Bakhtiyrova and A.K. Zharmagambetova, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, **26 (6)**, 1387(2016).
26. A. Cakir, *Biochemical Systematics and Ecology*, **32 (9)**, 809(2004).
27. K. Antonopoulos, V. Nick, S. Dimos and S. George, *Grasas Y Aceites*, **57 (1)**, 56(2006).
28. M.V. Ruiz-Méndez, R.A.G. Marta and M. Susana, Olive Oil Refining Process. In Handbook of Olive Oil, edited by Ramón Aparicio and John Harwood, Springer, 715(2013).
29. T. Fatima, L.S. Crystal, R.S. William, C. Dustin, D. Raju, W. David, J.W. Randall and K. Priti, *PLOS ONE*, **7 (4)**, 1(2012).
30. S. Siaka, Y. Soro, A.A. Adima and L. Lemee, *Journal of Applied Sciences*, **6 (15)**, 3167(2006).
31. S. Jung, S. Lee, H. Lee, J. Yoon and E.K. Lee, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **146**, 585(2016).
32. Jamaluddin, Mappiratu, Septiawan and Y. Yuyun, *Rasāyan J. Chem*, **9 (4)**, 673(2016).

[RJC-1858/2017]