



HAL
open science

Bioraffinage des drêches de tomates : procédés d'obtention de molécules d'intérêts biologiques et d'agromatériaux

Aya Jamaledine

► To cite this version:

Aya Jamaledine. Bioraffinage des drêches de tomates : procédés d'obtention de molécules d'intérêts biologiques et d'agromatériaux. Autre. Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT, 2022. Français. NNT : 2022INPT0090 . tel-04248254

HAL Id: tel-04248254

<https://theses.hal.science/tel-04248254v1>

Submitted on 18 Oct 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 :

Mme AYA JAMALEDDINE

le mercredi 14 décembre 2022

Titre :

Bioraffinage des drêches de tomates : procédés d'obtention de molécules d'intérêts biologiques et d'agromatériaux

Ecole doctorale :

Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA)

Directeur(s) de Thèse :

MME PASCALE DE CARO

M. AKRAM HIJAZI

Rapporteurs :

MME JANE ROCHE, UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

M. MOHAMED DEBOUBA, UNIVERSITE DE GABES TUNISIE

Membre(s) du jury :

MME GUILLERMINA HERNANDEZ-RAQUET, INSA TOULOUSE, Président

M. AKRAM HIJAZI, UNIVERSITE LIBANAISE, Membre

MME INESS BETTAIEB REBEY, CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE DE BORJ CEDRIA, Membre

MME PASCALE DE CARO, TOULOUSE INP, Membre

M. OTHMANE MERAH, TOULOUSE INP, Invité(e)

M. PHILIPPE EVON, TOULOUSE INP, Invité(e)

Résumé

La mise au point de formulations alternatives plus sûres utilisant des matières premières renouvelables correspond aujourd'hui à une demande sociétale forte, pour une meilleure prise en compte des impacts environnementaux et sanitaires. Dans un contexte de développement durable, il est nécessaire d'identifier de nouveaux gisements de matières premières telles que les drêches de tomates, un coproduit de l'industrie agro-alimentaire constitué de peaux, de fibres et de pépins de tomates. Riches en métabolites secondaires et en biopolymères, leur valorisation par des procédés verts a été mise en œuvre. Les drêches ont été mises en contact avec des solvants biosourcés sélectionnés pour leur biocompatibilité (éthanol, acétate d'éthyle, mélanges éthanol: eau, mélanges éthanol: acétate d'éthyle et solvants naturels eutectiques profonds) ainsi qu'avec le CO₂ à l'état supercritique. Les compositions des extraits ont été analysées par spectrophotométrie et par HPLC-DAD, ce qui a permis de détecter des acides phénoliques, des caroténoïdes, des flavanones, des flavones, des flavanols, des flavonols et des tanins.

- Les fractions obtenues avec l'éthanol et avec le mélange éthanol: eau sont particulièrement riches en polyphénols et en flavonoïdes, ce qui leur confère des propriétés anti-oxydantes (70-71% d'inhibition), des activités antidiabétiques (anti α -amylase et anti α -glucosidase avec IC₅₀ = 5-6 μ g/mL) ainsi que des propriétés antivirales contre Zika.
- La fraction obtenue par le CO₂ supercritique, riche notamment en lycopène, conduit également à des propriétés anti-oxydantes élevées (64% d'inhibition) et au meilleur niveau d'activité cytotoxique contre la lignée cancéreuse HCT 116 (64,5% d'inhibition).
- Nous avons observé que le prétraitement chimique permet d'enrichir l'extrait « acétate d'éthyle » en caroténoïdes, ce qui est bénéfique pour limiter le processus inflammatoire vis-à-vis de l'enzyme 15-lipoxygénase.
- Quant au prétraitement enzymatique, il améliore les propriétés anti-oxydantes de cette même fraction et est favorable à l'activité cytotoxique de la fraction éthanolique.
- Le fractionnement des molécules polaires et apolaires ne s'est pas avéré favorable aux propriétés thérapeutiques évaluées, ce qui indique l'intérêt de conserver les fractions dans leur intégralité.
- Le couplage réalisé entre les étapes d'extraction et de formulation, à l'aide de solvants naturels eutectiques profonds s'inscrit clairement dans une démarche d'écoconception pour la préparation de formulations cosmétiques aux propriétés filmogènes, incluant les différentes molécules bioactives détectées.

Enfin, pour la valorisation des biopolymères résiduels, des conditions de thermopressage ont été définies pour la conception d'un matériau biosourcé, sans ajout de liant. L'étude des propriétés mécaniques et l'analyse par GC-MS des composés organiques volatils (COV) émis par le matériau obtenu permettent de définir un champ d'applications. Des matériaux composites thermoplastiques incluant des pourcentages variables de drêches ont également été préparés par fusion à chaud.

Ainsi, le travail réalisé montre la faisabilité et l'intérêt d'une bioraffinerie utilisant les drêches de tomates pour l'obtention de plusieurs produits écoconçus.

Abstract

Nowadays the use of natural resources represents an opportunity to design safer formulations for the environment and human health. In a context of sustainable development, it is necessary to identify new sources of raw materials, such as tomato pomace, a co-product of the food industry consisting of tomato skins, fibers and seeds. Green processes were implemented to recover secondary metabolites and separate biopolymers. The pomace were brought into contact with biosourced solvents selected for their biocompatibility (organic solvents, natural deep eutectic solvents) or with supercritical CO₂. The compositions of the extracts were analyzed by spectrophotometry and by HPLC-DAD, for the detection of phenolic acids, carotenoids, flavanones, flavones, flavanols, flavonols and tanins.

- The fractions obtained with ethanol and with the ethanol: water mixture were particularly rich in polyphenols and flavonoids, which conferred antioxidant properties (70-71% of inhibition), anti-diabetic activities (anti α -amylase and anti α -glucosidase with IC₅₀ = 5-6 μ g/mL) as well as anti-viral properties against Zika.

- The fraction obtained by supercritical CO₂ rich in lycopene also led to high antioxidant properties (64% of inhibition) and to the best level of cytotoxic activity against HCT 116 cancer cell line (64.5% of inhibition).

- We observed that the chemical pre-treatment enriched "ethyl acetate" extract in carotenoids, to limit the inflammatory process towards 15-lipoxygenase enzymes.

- As for the enzymatic pre-treatment, it improves the antioxidant properties of this same fraction and is favorable to the cytotoxic activity of the ethanolic fraction.

- The fractionation of polar and apolar molecules did not improve the therapeutic properties, showing the synergy of molecules.

- Extraction and formulation stages were coupled using natural deep eutectic solvents (NaDES) for the preparation of cosmetic formulations with film-forming properties, including the various bioactive molecules detected.

Finally, for the recovery of residual biopolymers, thermopressing conditions were selected for the design of a biosourced material without the addition of a binder. The study of the mechanical properties and the analysis of the volatile organic compounds (VOC) emitted by the materials helped to define a field of applications. Thermoplastic composite materials including variable percentages of pomace were also prepared by hot melting.

Thus, the work carried out shows the feasibility of a biorefinery from tomato pomace to obtain several ecodesigned products.

Remerciements

Les recherches présentées dans ce manuscrit ont été effectuées au sein du Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (LCA, UMR INRAe) de Toulouse INP. Une partie des travaux a été réalisée en collaboration avec le Laboratoire de Génie Chimique (LGC) sur le site de la Faculté de Pharmacie (Université de Toulouse). L'Université de La Réunion (UMR Processus infectieux en milieu insulaire) a également apporté des compétences pour évaluer des propriétés biologiques.

Ces travaux ont bénéficié de supports financiers, de la part de la Fondation Walid Joumblatt pour les études universitaires (Beyrouth, Liban), du Laboratoire de Chimie Agro-industrielle, ainsi que du programme Hubert Curien (PHC- CEDRE) géré par Campus France « Bioraffinage de plantes méditerranéennes ».

J'adresse tout d'abord mes remerciements à la Direction du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, Pr. Sophie THIEBAUD-ROUX et Pr. Pierre-Yves PONTALIER pour m'avoir accueillie dans leur unité de recherche et m'avoir donné l'opportunité de réaliser mes travaux dans de très bonnes conditions.

Mon travail a été réalisé sous la direction de Madame Pascale DE CARO à qui j'adresse mes vifs remerciements. Merci d'avoir été toujours disponible pour orienter mon travail et pour me donner les conseils scientifiques nécessaires.

J'adresse également mes remerciements à Messieurs Akram HIJAZI (Laboratoire PRASE, Université Libanaise) et Othmane MERAH (LCA) pour m'avoir fait confiance et pour leurs conseils. Je veux remercier également Philippe EVON, Ingénieur de Recherche au LCA, pour avoir supervisé les travaux sur les agromatériaux et pour les conseils scientifiques prodigués. Merci également à Valérie SIMON, Maître de conférences au LCA, pour avoir partagé son expertise dans le domaine des composés organiques volatils.

Je remercie bien sûr Monsieur Jalloul BOUJILA d'avoir accepté de m'accueillir dans son équipe du LGC pour réaliser l'évaluation des propriétés thérapeutiques. Cette collaboration a été précieuse, car elle m'a permis de réaliser les travaux qui étaient initialement prévus à l'Université Libanaise.

Je tiens aussi à remercier Monsieur Chaker EL-KALAMOUNI, Maître de conférences à l'Université de La Réunion, Directeur adjoint de l'UMR PIMIT pour sa collaboration efficace.

Je n'oublierai pas de remercier l'Ecole Doctorale « Sciences de la Matière » de l'Université de Toulouse, en la personne du Professeur Eric BENOIST et du Professeur Bernard VIGUIER, pour leur compréhension et leur soutien.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur Mohamed DEBOUA, Professeur à l'Institut Supérieur de Biologie Appliquée de Médenine (Université de Gabès, Tunisie) et Madame Jane ROCHE, Maître de conférences-HDR à l'Université de Clermont-Ferrand, pour avoir accepté de juger ce manuscrit en qualité de rapporteurs. Tous mes remerciements vont également à Madame Iness BETTAIEB REBEY, Docteur au Centre de Biotechnologie de Borj (Cedria, Tunisie) et à Madame Guillermina HERNANDEZ-RAQUET, Directrice de Recherche au Toulouse Biotechnology Institute (TBI, INSA Toulouse), pour avoir accepté de prendre part au jury. Que les membres du jury soient remerciés pour le temps consacré à évaluer mon travail.

Mes remerciements s'adressent bien sûr à l'ensemble des chercheurs du LCA pour leur aide au cours de ma thèse et plus particulièrement à Lupita, Anne, Laure, William, Romain et Emmanuelle.

Merci aussi à mes amis doctorants du LCA, Laura, Nga, Victor, Arthur et Christopher, mes collègues de bureau, avec qui j'ai partagé d'agréables moments et de nombreuses discussions scientifiques et personnelles. A mes amies libanaises du LGC, merci pour leur encouragement et leur soutien.

Enfin, je ne remercierai pas assez la source de mon inspiration, à qui je dédie ce que j'ai réalisé, mes parents. Sans vos encouragements et votre soutien, je n'aurais pas pu surmonter les moments difficiles traversés.

Table des matières

<i>Introduction générale</i>	16
<i>Chapitre I : Études bibliographiques</i>	20
1. Caractéristiques de la matière première	21
2. Les principaux constituants de drêches de tomates	22
3. Procédés de prétraitement et d'extraction appliqués aux drêches	24
3.1. Prétraitement de la matière première	25
3.2. Procédés d'extraction appliqués aux drêches	25
3.2.1. Macération à froid	26
3.2.2. Extraction à l'aide de CO ₂ supercritique	27
3.2.3. Extraction par un solvant eutectique profond (natural deep eutectic solvent NaDES)	27
4. Métabolites secondaires présents dans les drêches	29
4.1. Les polyphénols	30
4.2. Les flavonoïdes	30
4.3. Les acides phénoliques	31
4.4. Les caroténoïdes	32
5. Propriétés biologiques de molécules issues des drêches	33
6. Conception d'écomatériaux	34
7. Conclusion	35
<i>Références bibliographique</i>	41
<i>Chapitre II : Bioactivités in vitro des extraits isolés des drêches de tomates</i>	47
1. Introduction	48
2. Méthodologie d'extraction	49
3. Teneurs totales en polyphénols (TTP)	52
4. Teneurs totales en caroténoïdes (TTC)	54
5. Activité anti-radicalaire	57
6. Analyse HPLC-DAD	58
7. Activités biologiques	58
7.1. Evaluation de l'activité antidiabétique	59
7.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	61
7.3. Cytotoxicité vis-à-vis des lignées cellulaires tumorales (HCT-116)	62
7.4. Évaluation de l'activité antivirale <i>in vitro</i> contre le ZIKV	63
8. Conclusion	65
9. Partie expérimentale	66

9.1.	Préparation et prétraitement de drêches de tomates	66
9.2.	Méthodes d'extraction	67
9.2.1.	Extraction par macération à froid	67
9.2.2.	Extraction par CO₂-SC.....	68
9.3.	Détermination de la composition des extraits.....	68
9.3.1.	Teneur totale en polyphénols (TTP)	68
9.3.2.	Teneur totale en flavonoïdes (TTF)	69
9.3.3.	Teneur totale en caroténoïdes (TTC)	69
9.4.	Détermination de l'activité biologique des extraits	69
9.4.1.	Activité antioxydante déterminée par DPPH	69
9.4.2.	Activités antidiabétiques	70
9.4.3.	Activité anti-inflammatoire.....	71
9.4.4.	Essai de viabilité cellulaire HCT-116	72
9.4.5.	Mesures par cytométrie de flux	72
9.5.	Analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC-DAD)	73
9.6.	Analyse statistique	73
	Références bibliographiques	76
	Chapitre III: Couplage entre extraction et formulation de molécules bioactives pour une application cosmétique	81
1.	Introduction	82
2.	Synthèse des solvants eutectiques.....	84
3.	Extraction de drêches par les DES.....	85
4.	Caractérisation des NaDES synthétisés.....	86
4.1.	Analyses Infra-rouge	86
4.2.	Les analyses thermiques	89
5.	Analyse des extraits	90
6.	Analyses HPLC-DAD.....	92
7.	Méthodologie pour la formulation	94
7.1.	Formulation du masque peel-off.....	95
7.2.	Formulation de baume à lèvres.....	96
7.3.	Formulation d'un masque hydrosoluble	96
7.4.	Formulation d'une crème hydratante	97
8.	Application des formulations.....	98
9.	Conclusion.....	99
10.	Partie expérimentale	100
10.1.	Préparation de drêches de tomates.....	100
10.2.	Méthodes d'extraction	100
10.2.1.	Extraction avec le mélange Glycérol/Glucose.....	100

10.2.2.	Extraction avec le mélange DL-menthol/Acide lactique.....	101
10.3.	Analyses infrarouges à transformée de Fourier (FTIR).....	101
10.4.	Analyses thermiques.....	101
10.5.	Analyse par chromatographie liquide haute pression (HPLC-DAD).....	102
10.6.	Détermination de la composition.....	102
10.6.1.	Teneur totale en flavonoïdes.....	102
10.6.2.	Teneur totale en caroténoïdes.....	103
10.6.3.	Teneur totale en polyphénols.....	103
10.7.	Préparation des émulsions cosmétiques.....	103
10.7.1.	Formulation du masque peel-off.....	103
10.7.2.	Formulation de baume à lèvres.....	104
10.7.3.	Formulation de masque hydrosoluble.....	104
10.7.4.	Formulation de crème hydratante.....	104
	<i>Références bibliographiques</i>	107
	<i>Chapitre IV : Conception d'agromatériaux à base des drêches de tomates</i>	111
1.	Introduction.....	112
2.	Analyse infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	113
3.	Composition chimique des drêches de tomates.....	114
4.	Obtention de matériaux par thermopressage.....	115
5.	Analyse thermogravimétrique (ATG) des drêches.....	116
6.	Choix des conditions pour le thermopressage.....	117
7.	Comparaison des propriétés des panneaux obtenus à partir des drêches brutes et des drêches traitées.....	118
8.	Étude des émissions en composés organiques volatils des panneaux à base de drêches.....	120
9.	Obtention des matériaux composites par mélange des drêches traitées dans des matrices thermoplastiques.....	124
9.1.	Choix des matrices et description de leur origine.....	124
9.2.	Analyse de la couleur des matériaux composites en fonction du taux de drêches.....	125
9.3.	Rhéologie en phase fondue des matériaux composites en fonction du taux de drêches.....	129
9.4.	Mesure de la densité des matériaux composites et déduction de leur porosité interne.....	132
10.	Propriétés physiques des composites à base de PCL et de PBS.....	135
10.1.	Dureté de surface Shore D des composites.....	135
10.2.	Analyses thermique et thermo-mécanique dynamique des composites à base de PCL et de PBS par DSC et par DMTA.....	137
11.	Conclusion générale.....	144
12.	Partie expérimentale.....	146
12.1.	Préparation de la matière première.....	146
12.2.	Analyses infrarouges à transformée de Fourier (FTIR).....	146
12.3.	Méthodes analytiques.....	146

12.4.	Analyse thermogravimétrique (ATG)	146
12.5.	Thermopressage	147
12.6.	Fabrication des composites à base de PBS, de PCL et de PHB.....	147
12.7.	Détermination de la couleur des composites à base de PBS, de PCL et de PHB	149
12.8.	Mesure de l'épaisseur et de la densité	150
12.9.	Mesure de la dureté de surface Shore D	150
12.10.	Détermination des propriétés en flexion	151
12.11.	Absorption d'eau et gonflement en épaisseur	151
12.12.	Analyse thermique par calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	151
12.13.	Analyse thermo-mécanique dynamique (DMTA)	152
12.14.	Étude qualitative des émissions de composés organiques volatils.....	153
	<i>Références bibliographiques</i>	156
	<i>Conclusion générale et perspectives</i>	161
	<i>Liste des abréviations</i>	166
	<i>Annexes</i>	168

Liste des figures

Figure 1 : Conception de bioraffinerie	17
Figure I-1 : Illustration botanique de l'espèce <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	22
Figure I-2 : Les biopolymères de la cuticule de la tomate	22
(Source: https://www.inrae.fr/actualites/cutine-peau-tomates-nouveaux-polymeres)	22
Figure I-3 : Acide 16-hydroxyhexadecanoïque présent dans la cutine des tomates	24
Figure I-4 : Schéma d'un procédé de prétraitement puis d'extraction de drêches des tomates [14].	25
Figure I-5 : Schéma récapitulatif des procédés d'extraction appliqués aux drêches de tomates	26
Figure I-6 : (A) Interaction d'un HBD avec le sel d'ammonium quaternaire choline chlorure (B) Diagramme de phase d'un solvant eutectique profond (DES) à partir de deux composants A et B. [29], [30].....	28
Figure I-7 : Accepteurs de liaisons hydrogène et donneurs de liaisons hydrogène utilisés pour la préparation de solvants eutectiques profonds.....	29
Figure I-8 : Sous-familles de polyphénols	30
Figure I-9 : Structure de base des flavonoïdes et de leurs sous-classes [38].....	31
Figure I-10 : Structure de base des principaux acides phénoliques [39]	32
Figure II-1 : Stratégies pour générer des extraits de drêches de tomates sèches	50
Figure II-2 : Rendements d'extraction de différents extraits de drêches	51
Figure II-3 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars	53
Figure II-4 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars	54
Figure II-5 : Teneur totale en β-carotène des extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars	55
Figure II-6 : Teneur totale en lycopène des extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars	56
Figure II-7 : Teneurs en caroténoïdes totaux dans les extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars.....	56
Figure II-8 : Activité anti-radicalaire DPPH des extraits de drêches testés à 1 mg/mL, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars	57
Figure II-9 : Activité anti α-glucosidase d'extraits de drêches testés à 250 µg/mL, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars	60
Figure II-10 : Activité anti α-amylase d'extraits de drêches testés à 250 µg/mL, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars	60
Figure II-11 : Activité anti-inflammatoire d'extraits de drêches sur l'enzyme 15-lipoxygénase, extraits testés à 250 µg/mL, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC, 200 bars	62
Figure II-12 : Activité cytotoxique d'extraits de drêches (testés à 50 µg/mL) contre les lignées cellulaires cancéreuses HCT 116, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO ₂ -SC à 40 °C et 200 bars.....	63
Figure II-13 : Activité antivirale des extraits contre le ZIKV	64
Figure II-14 : Drêches de tomates brutes, avant et après broyage (1 à 2 mm)	67
Figure II-15 : Exemple d'installation alimentée par du CO ₂ supercritique	68
Figure III-1 : Exemple d'interaction d'un HBD avec le sel d'ammonium quaternaire choline chlorure [10].....	83
Figure III-2 : Principe du couplage extraction/ formulation	86
Figure III-3 : Chromatogrammes HPLC-DAD à 280 nm des extraits obtenus par les différents DES	93
Figure III-4 : Formulations cosmétiques : masque peel-off, masque hydrosoluble, crème hydratante et baume à lèvres (de gauche à droite).....	95
Figure III-5 : Tests d'étalement des formulations (dépôt de 0,07 g)	98
De gauche à droite : masque peel-off, masque lavable, crème hydratante et baume à lèvres.....	98
Figure III-6 : Drêches brutes broyées entre 1 et 2 mm	100
Figure IV-1 : Analyse thermogravimétrique sous air entre 30°C et 800°C des drêches brutes.	117
Figure IV-2 : Aspect des panneaux de fibres (carrés de 15 cm de côtés) fabriqués à partir des drêches brutes à 180°C et 200°C (de gauche à droite).....	118
Figure IV-3 : Photos des composites à base de (a) PCL, (b) PBS et (c) PHB.....	126

Figure IV-4 : Analyse colorimétrique des six composites à base du PBS en fonction du taux massique de drêches (0, 5, 10, 15, 20 et 25 %)	127
Figure IV-5 : Analyse colorimétrique des six composites à base du PCL en fonction du taux massique de drêches (0, 5, 10, 15, 20 et 25 %)	128
Figure IV-6 : Analyse colorimétrique des six composites à base du PHB en fonction du taux massique de drêches (0, 5, 10, 15, 20 et 25 %)	129
Figure IV-7 : Évolution de la viscosité apparente à 170°C en fonction du taux de cisaillement appliqué et du taux de drêches pour les composite à base de PHB	130
Figure IV-8 : Évolution de la viscosité apparente à 65°C en fonction du taux de cisaillement appliqué et du taux de drêches pour les composites à base de PCL	130
Figure IV-9 : Évolution de la viscosité apparente à 100°C en fonction du taux de cisaillement appliqué et du taux de drêches pour les composites à base de PBS	131
Figure IV-10 : Variation de la densité en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PBS	133
Figure IV-11 : Variation de la densité en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PCL	134
Figure IV-12 : Variation de la densité en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PHB	134
Figure IV-13 : Variation de la dureté de surface Shore D en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PBS	136
Figure IV-14 : Variation de la dureté de surface Shore D en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PCL	136
Figure IV-15 : Variation du module de conservation (E') en fonction de la température pour les composites à base de PBS	140
Figure IV-16 : Variation du facteur de perte (tan δ) en fonction de la température pour les composites à base de PBS	141
Figure IV-17 : Variation du module de conservation (E') en fonction de la température pour les composites à base de PCL	142
Figure IV-18 : Variation du facteur de perte (tan δ) en fonction de la température pour les composites à base de PCL	143
Figure IV-19 : Drêches de tomates broyées très finement	149
Figure IV-20 : Configuration du micro-compoundeur Thermo Scientific Haake MiniLab	149
Figure IV-21 : Duromètre	150
Figure IV-22 : Montage expérimental	153
Figure V-1 : Schéma de la bioraffinerie conçue à partir des drêches de tomates	165

Liste des tableaux

Tableau I-1 : Composition des drêches	23
Tableau I-2 : Teneur en biopolymères.....	23
Tableau I-3: Obtention de métabolites à partir des drêches	36
Tableau I-4 : Propriétés thérapeutiques des molécules identifiées, issues des drêches de tomates.....	39
Tableau II-1 : Bilan matière des extraits à l'éthanol	52
Tableau II-2 : Bilan matière des extractions à l'acétate d'éthyle	52
Tableau II-3 : Identification de molécules dans les extraits de drêches par HPLC-DAD (échantillon à 1 mg/mL).....	74
Tableau III-1 : Composition des DES sélectionnés.....	85
Tableau III-2 : Conditions d'extraction avec les DES.....	86
Tableau III-3 : Formules des molécules entrant dans la composition des NaDES synthétisés	87
Tableau III-4 : Principales bandes Infra-rouge, caractéristiques des NaDES synthétisés	88
Tableau III-5 : Résultats des analyses thermiques des NaDES	89
Tableau III-6 : Comparaisons des taux de polyphénols extraits.....	91
Tableau III-7 : Comparaisons des taux de flavonoïdes extraits.....	91
Tableau III-8 : Comparaisons des taux de caroténoïdes extraits	92
Tableau III-9 : Composition du masque peel off.....	95
Tableau III-10 : Composition du baume à lèvres	96
Tableau III-11 : Composition du masque hydrosoluble	97
Tableau III-12 : Composition de la crème hydratante.....	97
Tableau III-13 : Propriétés filmogènes des NaDES et des formulations.....	98
Tableau III-14 : Identification de molécules dans les extraits de drêches par HPLC-DAD.....	105
Tableau IV-1 : Analyses infrarouges de drêches brutes	113
Tableau IV-2 : Composition chimique de la matière première brute et des drêches traitées (MS, matière sèche).....	115
Tableau IV-3 : Comparaison des différentes propriétés des panneaux à base de drêches pressés à chaud à 180°C et 200°C.....	119
Tableau IV-4 : Principaux composés volatils identifiés provenant des panneaux à base des drêches brutes et traitées.....	121
Tableau IV-5 : Principales caractéristiques des trois matrices bioplastiques utilisées.....	125
Tableau IV-6 : Variation de m et K à 170°C en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PHB, et coefficient de corrélation R ² associé au modèle linéaire de la loi-puissance d'Ostwald et de Waele	132
Tableau IV-7 : Variation de m et K à 100°C en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PBS, et coefficient de corrélation R ² associé au modèle linéaire de la loi-puissance d'Ostwald et de Waele	132
Tableau IV-8 : Variation de m et K à 65°C en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PCL, et coefficient de corrélation R ² associé au modèle linéaire de la loi-puissance d'Ostwald et de Waele	132
Tableau IV-9 : Porosité des matériaux composites à base de PHB en fonction du taux de drêches ...	135
Tableau IV-10 : Porosité des matériaux composites à base de PCL en fonction du taux de drêches .	135

Tableau IV-11 : Température de transition vitreuse (T_g), température de fusion (T_f), enthalpie de fusion (ΔH_f) et taux de cristallinité de la matrice polymère dans les matériaux composites à base de PCL et de PBS en fonction du taux de drêches	138
Tableau IV-12 : Conditions opératoires relatives à l'analyse par GC-MS	155

Introduction générale

La transformation des produits agricoles génère de grandes quantités de biomasse. Celles-ci constituent une réserve partiellement inexploitée en molécules telles que des protéines, des lipides (acides gras), des pigments (caroténoïdes), des polyphénols (phénols, flavonoïdes) et des biopolymères. L'utilisation de ces molécules comme matières premières pour certains types de productions doivent être explorés dans le cadre de la diversification des approvisionnements [1].

Pour ne pas entrer en compétition avec les filières alimentaires, il est nettement préférable d'utiliser des coproduits issus des productions agricoles. Il peut s'agir de coproduits issus d'une première transformation d'une matière agricole (pailles, bagasse, noyaux...) ou issus de seconde transformation (drêches de brasserie, mélasse, vinasse, lactosérum...), pour conduire à des produits fonctionnels commercialisables. La directive 2008/98/CE sur la gestion des déchets, ainsi que sa directive modificative (UE) [2018/851](#) sur l'économie circulaire incitent à considérer les déchets comme des gisements pour créer des flux de recyclage vers des filières agro-industrielles tournées vers les bioproduits, les bioénergies et les écomatériaux. C'est pourquoi, l'intégration de co-produits végétaux dans un schéma de bioraffinerie devient une approche incontournable aux interfaces des domaines de la chimie, biochimie et physico-chimie. Comme le montre la **figure 1**, le bioraffinage de la biomasse comprend typiquement une étape de prétraitement, un procédé de fractionnement et une étape de purification des produits, pouvant impliquer à la fois des bioprocédés et des procédés chimiques, généralement conformes à la chimie verte.

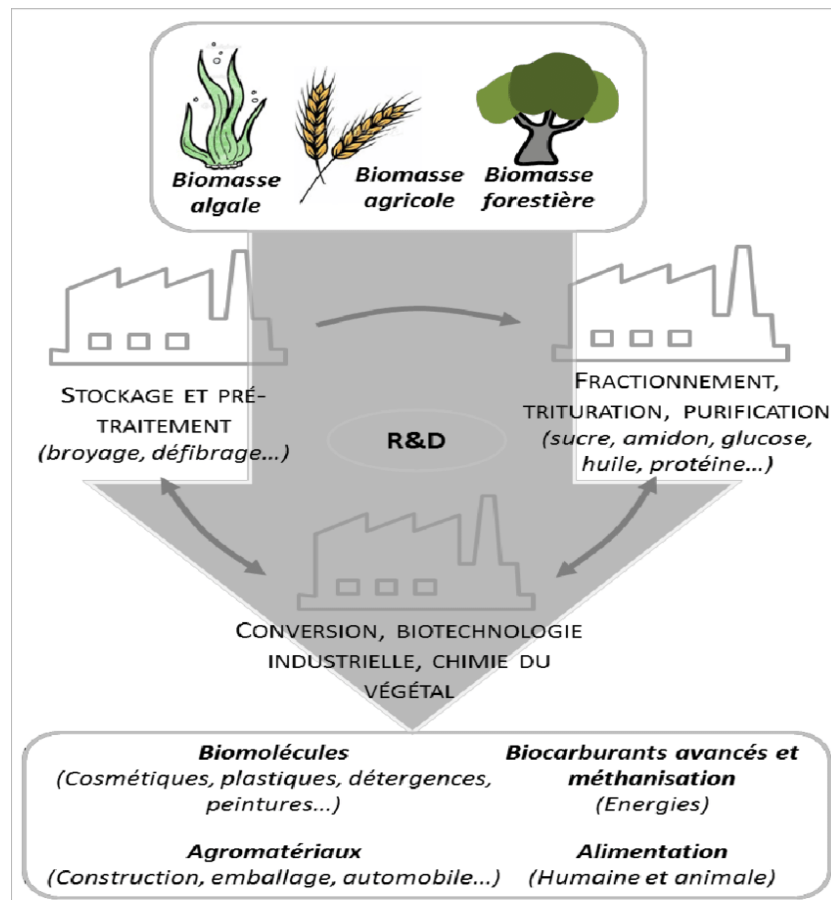


Figure 1 : Conception de bioraffinerie

(Source : *Pôle Industrie & Agroressources*) *

Les débouchés concernent des produits à tonnages élevés (tels que les écomatériaux, les biocarburants, les biolubrifiants ou les biosolvants) mais également des produits à hautes valeurs ajoutées destinés aux marchés de la cosmétique, de la santé humaine ou animale et de la protection des plantes et des cultures (biostimulant, biopesticide, biocontrôle).

Le modèle de développement économique actuel est en train d'évoluer et s'appuie de plus en plus sur l'utilisation de la biomasse renouvelable et le recyclage de tous les flux matières sortants. On parle de bioéconomie. La demande des consommateurs pour des produits écoresponsables minimisant les impacts sur la santé, est en augmentation au cours des dernières années [2]. Ainsi, ont fait leur apparition des écolabels dans le domaine des cosmétiques (COSMEBIO™), des matériaux avec le Label « haute qualité environnementale » et pour différents produits commercialisés (marque NF-environnement). Ces labels offrent une double garantie : la qualité d'usage et la qualité écologique. Le produit doit répondre à un cahier des

charges précis qui prend en compte les impacts environnementaux identifiés sur le cycle de vie du produit.

Ainsi, l'utilisation d'une biomasse dans sa totalité ouvre la voie à des chaînes de valeurs qui améliorent la compétitivité économique et répondent aux défis écologiques [3].

Dans ce contexte, les travaux de cette thèse proposent une stratégie pour la valorisation d'un co-produit disponible, généré par l'industrie agro-alimentaire. Cette matière première périssable si elle n'est pas séchée, peut participer à l'élaboration d'ingrédients à haute valeur ajoutée et à celle de matériaux fonctionnels. D'une part, l'obtention de fractions riches en molécules actives ont un potentiel pour des applications thérapeutiques et cosmétiques. D'autre part, l'utilisation des biopolymères résiduels pour l'obtention d'écomatériaux n'a jamais été explorée. Pour étudier ces voies de valorisation, les procédés mis en œuvre seront sélectionnés pour minimiser les impacts et les coûts.

Ces travaux ont été réalisés au Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (LCA) de Toulouse INP sur le site de l'ENSIACET et celui d'AGROMAT (Tarbes). Ils ont fait l'objet d'une collaboration avec le Laboratoire de Génie Chimique (LGC) de l'Université Paul Sabatier (sur le site de la Faculté de Pharmacie) pour les analyses chromatographiques des extraits et l'évaluation de leurs propriétés thérapeutiques. L'expertise de l'Unité mixte « Processus Infectieux en Milieu Insulaire » de l'Université de La Réunion a été sollicitée pour l'évaluation des propriétés antivirales.

Ainsi, le manuscrit de la thèse est organisé en 4 chapitres répartis comme suit :

Le **chapitre 1** porte sur des données bibliographiques relatives aux caractéristiques de la matière première et à ses principaux constituants. Les procédés appliqués au traitement des matières premières végétales sont également décrits.

Le **chapitre 2** est consacré à la production de fractions dont les bioactivités *in vitro* ont été évaluées : les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antidiabétiques, anti-cancer et antivirales des fractions y sont analysées et mises en perspective avec leur profil chromatographique réalisé en HPLC.

Le **chapitre 3** porte sur le couplage des étapes d'extraction et de formulation à l'aide de solvants eutectiques naturels profonds, procédé qui a conduit à l'écoconception de plusieurs types de formulations en cosmétique.

Le **chapitre 4** est consacré à la conception d'agromatériaux et de composites biosourcés et/ou biodégradables intégrant les biopolymères et une partie des composés hydrosolubles. Les propriétés obtenues sont discutées par rapport aux cahiers des charges possibles. L'analyse des composés organiques volatils fournit des données supplémentaires sur le matériau 100 % drêche.

Enfin, la **conclusion générale** fait le bilan des travaux et ouvre plusieurs perspectives de travail.

Références bibliographiques

[1] Santana-Méridas O, Gonzalez-Coloma A, Sanchez-Vioque R. Agricultural residues as a source of bioactive natural products. *Phytochemistry*. 2012; 11: 447-466.

[2] Karimi A, Kazemi M, Samani SA, Simal-Gandara J. Bioactive compounds from by-products of eggplant: Functional properties, potential applications and advances in valorization methods. *Trends in Food Science and Technology*. 2021; 112: 518-531.

[3] Lange L, Meyer AS. Potentials and possible safety issues of using biorefinery products in food value chains. *Trends in Food Science & Technology*. 2019; 84: 7-11.

Chapitre I : Études bibliographiques

1.	Caractéristiques de la matière première	21
2.	Les principaux constituants de drêches de tomates	22
3.	Procédés de prétraitement et d'extraction appliqués aux drêches	24
3.1.	Prétraitement de la matière première.....	25
3.2.	Procédés d'extraction appliqués aux drêches	25
3.2.1.	Macération à froid	26
3.2.2.	Extraction à l'aide de CO ₂ supercritique	27
3.2.3.	Extraction par un solvant eutectique profond (natural deep eutectic solvent NaDES) .	27
4.	Métabolites secondaires présents dans les drêches.....	29
4.1.	Les polyphénols.....	30
4.2.	Les flavonoïdes.....	30
4.3.	Les acides phénoliques	31
4.4.	Les caroténoïdes	32
5.	Propriétés biologiques de molécules issues des drêches	33
6.	Conception d'écomatériaux.....	34
7.	Conclusion.....	35

1. Caractéristiques de la matière première

La culture de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) est très répandue dans le monde et représente un élément clé du régime méditerranéen (**figure I-1**). Il s'agit du légume le plus consommé en France, et qui recèle de nombreuses vertus pour la santé reconnue depuis une vingtaine d'année. Ses effets bénéfiques sont liés à la présence de vitamines, de fibres et d'anti-oxydants, dont la présence peut dépendre des variétés de tomates, des conditions de culture et des procédés de transformations de la tomate.

Seule une partie des tomates est consommée à l'état frais, plus de 50 % des volumes sont transformés pour produire des pulpes et des sauces, génère des co-produits appelés drêches de tomates. Une partie des drêches est utilisée pour l'alimentation animale ou pour l'épandage en agriculture. Or, leur mise en décharge peut impacter l'environnement en générant une pollution organique des eaux de surface ou eaux souterraines. Ce coproduit représente entre 3 et 5% en masse des tomates transformées et correspond à une production mondiale entre 5,4 et 9,0 Mt [1]. En France, environ 5000 tonnes de drêches peuvent être récupérées. Pour les agriculteurs, la valorisation de ces drêches pourrait représenter un complément de revenu non-négligeable. Il apparait donc important de savoir dans quelle mesure les drêches peuvent être une source de composés bénéfiques présents initialement dans la tomate.

Les drêches sont constituées d'un mélange de peaux, de parties fibreuses et de pépins. Notons que le taux d'humidité élevé des drêches rend leur stockage en l'état, difficile, car propice au développement microbien. Les drêches peuvent se conserver quelques jours en chambre réfrigéré ou bien plus longtemps si elles sont séchées rapidement.

La composition chimique des drêches riches en biopolymères et en métabolites suggère plusieurs types d'application pour leur recyclage [2]. Les peaux, en particulier, sont riches en métabolites secondaires.

Selon Casa et al. [3], les drêches contiennent une concentration élevée de composés exploitables ; le lycopène pour la production de compléments alimentaires, la cutine pour la préparation d'emballages alimentaires ou la pectine comme agent gélifiant dans l'industrie alimentaire et l'huile de graines de tomate pour la cosmétique.



Figure I-1 : Illustration botanique de l'espèce *Solanum lycopersicum* L.

Une demande croissante en composés d'origine naturelle nécessite une diversification des approvisionnements, c'est pourquoi le gisement des coproduits tels que les drêches représente une opportunité pour alimenter les marchés pharmaceutiques, cosmétiques ou celui des emballages.

2. Les principaux constituants de drêches de tomates

Les plantes produisent des métabolites primaires et secondaires que l'on cherche à isoler pour leurs propriétés recherchées. Les métabolites primaires comprennent les lipides, les protéines et la matière lignocellulosique à base de cellulose et d'hémicellulose (constituées de chaînes de polysaccharides) et de lignine (enchainements de motifs phénoliques). Les métabolites secondaires sont moins abondants mais constituent une diversité élevée en molécules.

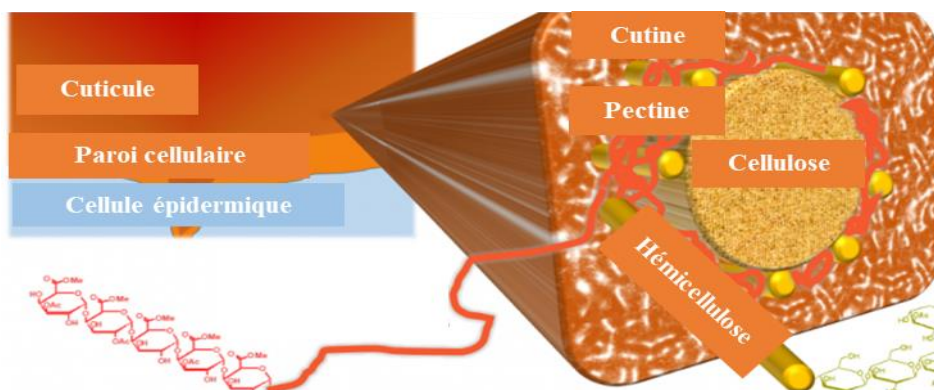


Figure I-2 : Les biopolymères de la cuticule de la tomate

(Source: <https://www.inrae.fr/actualites/cutine-peau-tomates-nouveaux-polymeres>)

Les peaux sont constituées d'une couche de cellules épidermiques recouverte de la **cuticule** [1] dont la **figure I-2** représente la structure. A la surface de la cuticule il y a les cires, un mélange complexe de composants aliphatiques et cycliques à longues chaînes [4]. **La cuticule** est constituée de cutine, de pectines et de cellulose et d'hémicellulose. **La cutine** est un polyester à base de monomères d'acides gras hydroxylés de type C16 ou C18 représentant près de 80% de la structure de la peau [5]. **Les pectines** présentes dans la peau de tomates sont des polysaccharides hydrophiles contenant des acides galacturoniques [6]. On les trouve généralement en association avec d'autres composés comme la cellulose, la lignine ou les polyphénols présents dans la paroi cellulaire des plantes. L'acide galacturonique représente environ 70% de la composition de pectine lié aux positions O-1 et O-4. L'acide uronique peut être présent sous la forme d'esters méthylique [7].

La cellulose est un polymère de D-glucose et l'hémicellulose contient des hétéropolymères, à base de xylanes, xyloglucanes, galactanes, arabinanes, arabinogalactanes. Ces chaînes de polysaccharides sont en partie liées par des liaisons hydrogènes à la cellulose. **La lignine** est un polymère à motifs phénoliques présent dans les fibres des drêches ; elle est réticulée avec la cellulose et l'hémicellulose par des liaisons covalentes et des liaisons hydrogènes [8]. Le **tableau I-1** présente la composition globale des drêches (graines et peaux) selon [Farcas et al.](#) [2].

Tableau I-1 : Composition des drêches

NDF	Sucres totaux	Protéine	Pectine	Lipides	Teneurs en matières minérales
59 %	25,7%	19,3%	7,5%	5,8 %	3.9 %

Le **tableau I-2** indique les teneurs en biopolymères des drêches, selon [Szymanska-Chargot et al.](#) [9].

Tableau I-2 : Teneur en biopolymères

Drêches de tomates (g/100 g MS)	Teneur en matière sèche	Cellulose	Hémicellulose	Lignine	*NDF
	6.03	8.60	5.33	5.85	19.77
	(±0.22) %	(±0.34) %	(±0.92) %	(±0.32) %	(±1.52) %

*NDF : neutral detergent fibers

Les pépins de tomates présents dans les drêches sont riches en lipides (20 à 25%) et en protéines dont l'acide glutamique et l'acide aspartique [10]. Ils sont sources de tocochromanols (tocophérols and tocotrienols). L'huile de pépin de tomates contient environ 20% en acides gras saturés (principalement acide palmitique et acide stéarique) et 80% en acides gras insaturés, dont l'acide linoléique représentant plus de 50% [3].

La peau des tomates contient également des acides gras hydroxylés libérés lors de l'hydrolyse des polyesters de la cutine (**figure I-3**). Les pépins de tomate contiennent également des protéines.

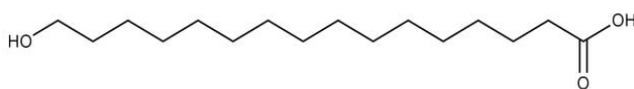


Figure I-3 : Acide 16-hydroxy hexadécanoïque présent dans la cutine des tomates

Les drêches de tomates sont mentionnées comme une source de caroténoïdes (notamment avec le lycopène, les carotènes et la lutéine), de composés phénoliques (tels que l'acide chlorogénique, l'acide coumarique, l'acide caféique) et de flavonoïdes comprenant des flavones (hydroxy et methoxy falvones) et des flavonols (tels que la rutine, la quercétine, le kaempférol...), de flavanols (principalement l'épicatéchine) [11].

D'autres familles de molécules sont présentes dans les drêches parmi lesquelles les tanins, les vitamines, les dérivés glucosidiques (forme hétérosise), dont les concentrations varient en fonction des facteurs environnementaux [12]. Certains de ces composés sont reconnus comme ayant des propriétés antioxydantes élevées. En particulier, le lycopène est le principal caroténoïde présent dans la tomate, avec le β -carotène et la lutéine. Sa capacité à inhiber les formes réactives de l'oxygène permet de lutter contre le stress oxydatif et est dix fois supérieure à celle de l' α -tocophérol [13]. Le même auteur a observé que la teneur en lycopène dépend fortement de la variété des plantes de tomates et du mois de récolte.

3. Procédés de prétraitement et d'extraction appliqués aux drêches

La biomasse telle que les drêches est une matière première complexe pour laquelle il faut sélectionner des procédés de traitement adaptés pour fractionner et isoler certaines molécules.

Dans certains cas, il sera intéressant de réaliser un prétraitement avant la mise en contact avec un solvant, tel que décrit par [Catalkaya et al. \[14\]](#) pour l'extraction du lycopène (**figure I-4**).

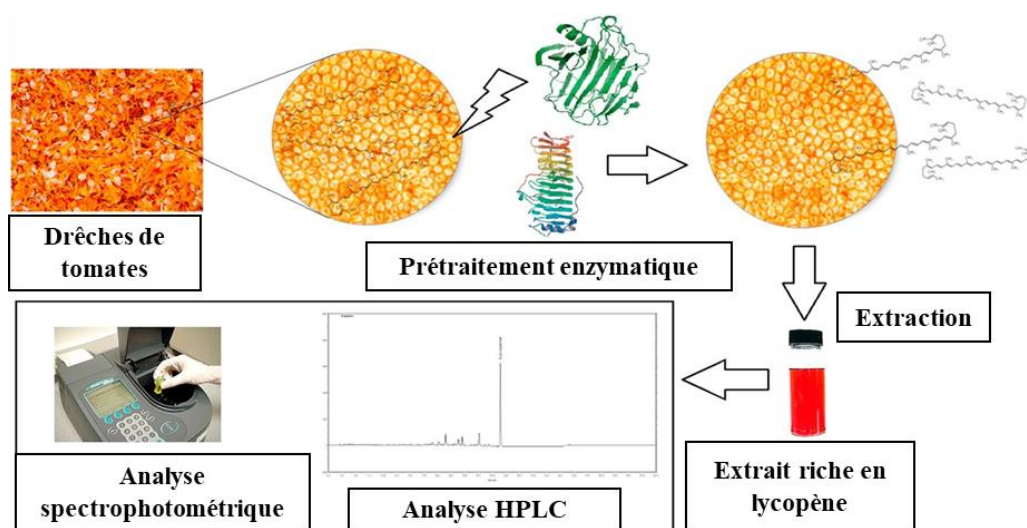


Figure I-4 : Schéma d'un procédé de prétraitement puis d'extraction de drêches des tomates [14].

3.1. Prétraitement de la matière première

La structure compacte de la peau du fruit associant plusieurs types de polysaccharides (cellulose, hémicellulose et pectine) rend la diffusion d'un solvant difficile, ce qui peut aboutir à une faible efficacité d'extraction. Une étape de prétraitement peut améliorer la libération de certains composants tels que les composés phénoliques ou les caroténoïdes car la structure de la paroi cellulaire subit une lyse lors de l'hydrolyse des enzymes. Par exemple, des enzymes à activités pectinolytiques, cellulolytiques et hémicellulolytiques ont été utilisées pour augmenter la récupération du lycopène [15]. Dans ces conditions, 11,5 mg de lycopène/g de drêches de tomates ont été extraits avec de l'acétate d'éthyle [14]. Un autre auteur [16] a montré que le lycopène peut être récupéré efficacement à partir des peaux de tomates en combinant l'utilisation d'enzymes et d'un surfactant (Span 20) qui a été conservé dans la formulation finale. [Grassino et al. \[4\]](#) proposent un procédé d'extraction de la pectine avec un prétraitement des drêches en conditions oxydantes (solution tampon d'oxalate d'ammonium et d'acide oxalique).

3.2. Procédés d'extraction appliqués aux drêches

Plusieurs travaux font état de procédés d'extraction mis en œuvre à partir des drêches, en fonction de la nature des molécules cibles à isoler (**tableau I-3**). Des méthodes d'extraction en milieu aqueux et en présence d'un solvant organique ont été répertoriées à partir de drêches (**figure I-5**). En l'absence de prétraitement, les drêches ont été mis en contact avec différents

solvants (hexane : acétone ou éthanol : eau) à température ambiante [17], [18]. Pour préparer des fractions ayant des propriétés anti-oxydantes, des extractions activées par sonication (EAS) ou par micro-ondes (EAM) ont été réalisées [19]. La sonication a été appliquée à des milieux contenant de l'éthanol à 95° (50 min) [20], de l'huile de tournesol (10 min, 70 W) [21] ou du n-hexane: acétone (100 W, 30 min) [22]. Des micro-ondes (300 W) ont été utilisées avec de l'EtOH 95° (60 s) pour extraire plusieurs métabolites des drêches [23]. Les deux modes d'activation ont permis de réduire les temps de contact et la quantité de solvants, en raison d'une diffusion plus facile des solvants dans le réseau de biopolymères. Mais ces conditions ont induit une augmentation de la température dans le milieu d'extraction, ce qui peut provoquer la dégradation de certaines molécules et diminuer la sélectivité de l'extraction. De plus, une modification de la structure chimique des composés cibles n'est pas à exclure [20].

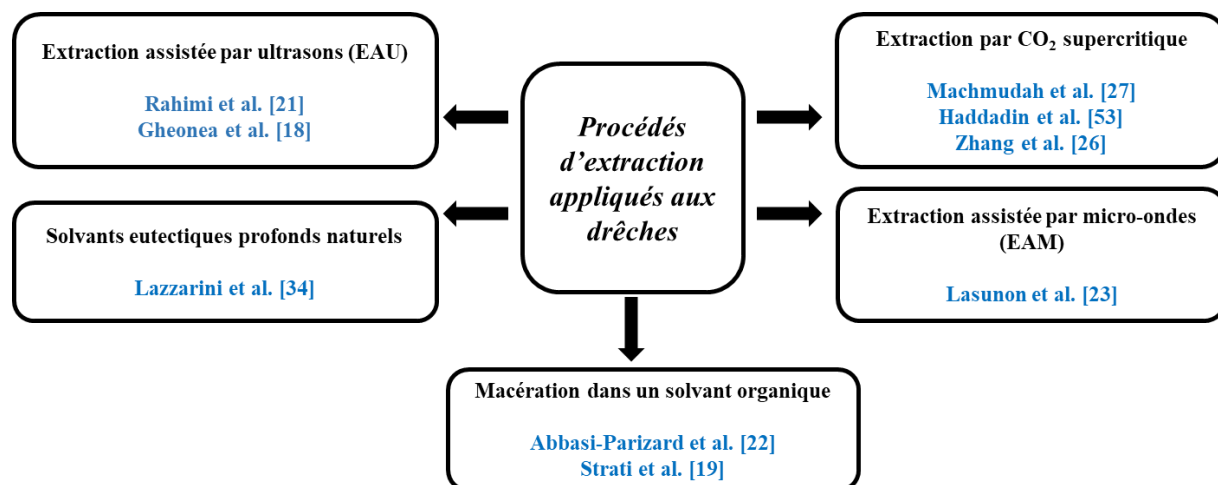


Figure I-5 : Schéma récapitulatif des procédés d'extraction appliqués aux drêches de tomates

3.2.1. Macération à froid

Ce procédé consiste à mettre en contact la biomasse avec un solvant à température ambiante sous une agitation régulière. Les molécules ayant une affinité suffisante avec le solvant se dissolvent dans le milieu. Le résidu solide de biomasse est filtré et le solvant est évaporé pour obtenir les extraits contenant les molécules d'intérêts. Des solvants polaires et apolaires sont utilisés pour la macération en fonction des molécules à extraire. Les fractions lipophiles sont extraites avec des solvants peu polaires comme le cyclohexane et l'acétate d'éthyle et les fractions hydrophiles sont extraites avec des solvants polaires comme l'eau, l'éthanol ou l'acétone. Des extractions successives avec des solvants de polarités croissantes peuvent être

pratiquées. Notons que les solvants organiques usuels sont de plus en plus délaissés au profit de solvants biosourcés et moins toxiques tels que certains alcools ou esters [24].

3.2.2. Extraction à l'aide de CO₂ supercritique

Parmi les technologies respectueuses de l'environnement, une attention est portée sur l'utilisation du CO₂ à l'état supercritique. Ce fluide possède une masse volumique proche de celle d'un liquide et une viscosité proche de celle des gaz, ce qui leur confère des pouvoirs de diffusion et de solvatation intéressants, vis-à-vis les molécules extractibles. L'utilisation du CO₂ supercritique apparaît comme une méthode prometteuse pour l'extraction de molécules apolaires et des huiles végétales. Les avantages de cette technique résident en un temps d'extraction court et la production d'extraits de qualité sans résidu de solvant. La température et la pression au-delà du point critique (31°C et 73.8 bar) permettent de réaliser l'extraction des molécules thermosensibles [25], [26], [27]. Des extraits riches en lycopène et β -carotène et lutéine sont obtenus à l'aide de CO₂-SC entre 60 et 80°C, sous 300-400 bars pendant une centaine de minutes. La présence de l'huile de graines de tomate permet d'améliorer la récupération du lycopène de 18% à 56%. Néanmoins, ces conditions nécessitent un investissement pour un équipement sécurisé.

3.2.3. Extraction par un solvant naturel eutectique profond (NaDES)

Le principal inconvénient de l'utilisation des solvants organiques réside dans leurs émissions de composés organiques, ayant des impacts sanitaires, environnementaux et en terme de sécurité. De plus, la distillation du solvant organique représente un coût énergétique et peut conduire à la production de milieux avec des traces résiduelles de solvants. Pour améliorer la recyclabilité des solvants et répondre aux principes de la chimie verte, l'utilisation de liquides ioniques et de solvants eutectiques profonds (DES) s'est développée en recherche, puis pour des procédés industriels [28]. Ainsi, les DES suscitent actuellement un intérêt important pour la conception de solvants écologiques pour l'extraction et la séparation de composés naturels [29].

Les DES sont des solvants préparés à partir d'un composé donneur de liaisons hydrogène (HBD) et d'un composé accepteur des liaisons hydrogènes (HBA), selon un rapport molaire spécifique. Ce mélange forme un nouveau corps pur au point de fusion abaissé par rapport au point de fusion de chaque composé individuel (**figure I-6**).

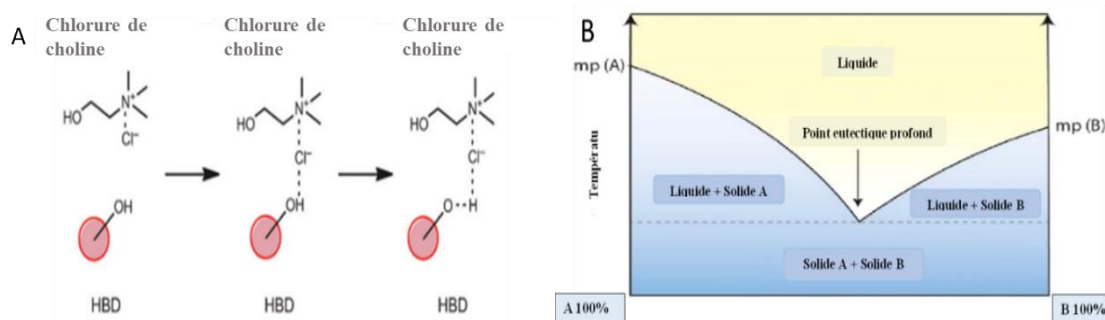


Figure I-6 : (A) Interaction d'un HBD avec le sel d'ammonium quaternaire choline chloride (B) Diagramme de phase d'un solvant eutectique profond (DES) à partir de deux composants A et B. [29], [30]

Les deux espèces sont capables de former des liaisons intermoléculaires non-covalente permettant de diminuer l'énergie du mélange et ainsi d'abaisser la température de fusion ce qui leur confère une faible volatilité. Le choix des composés détermine leur faible toxicité et leur biodégradabilité pour obtenir un solvant d'extraction attrayant pour l'industrie [31]. Leur viscosité peut être abaissée en ajoutant de l'eau [32]. Plusieurs exemples de composés utilisés pour préparer des DES sont présentés dans la **figure I-7**. Duarte et al. [33] ont décrit une famille des solvants eutectiques profonds thérapeutiques (THEDES) favorisant la pénétration d'un ingrédient pharmaceutique actif (IPA). A notre connaissance, seuls deux études décrivent l'application d'un DES aux drêches de tomates pour l'extraction de caroténoïdes en utilisant le mélange « menthol: acide lactique » [34], [35].

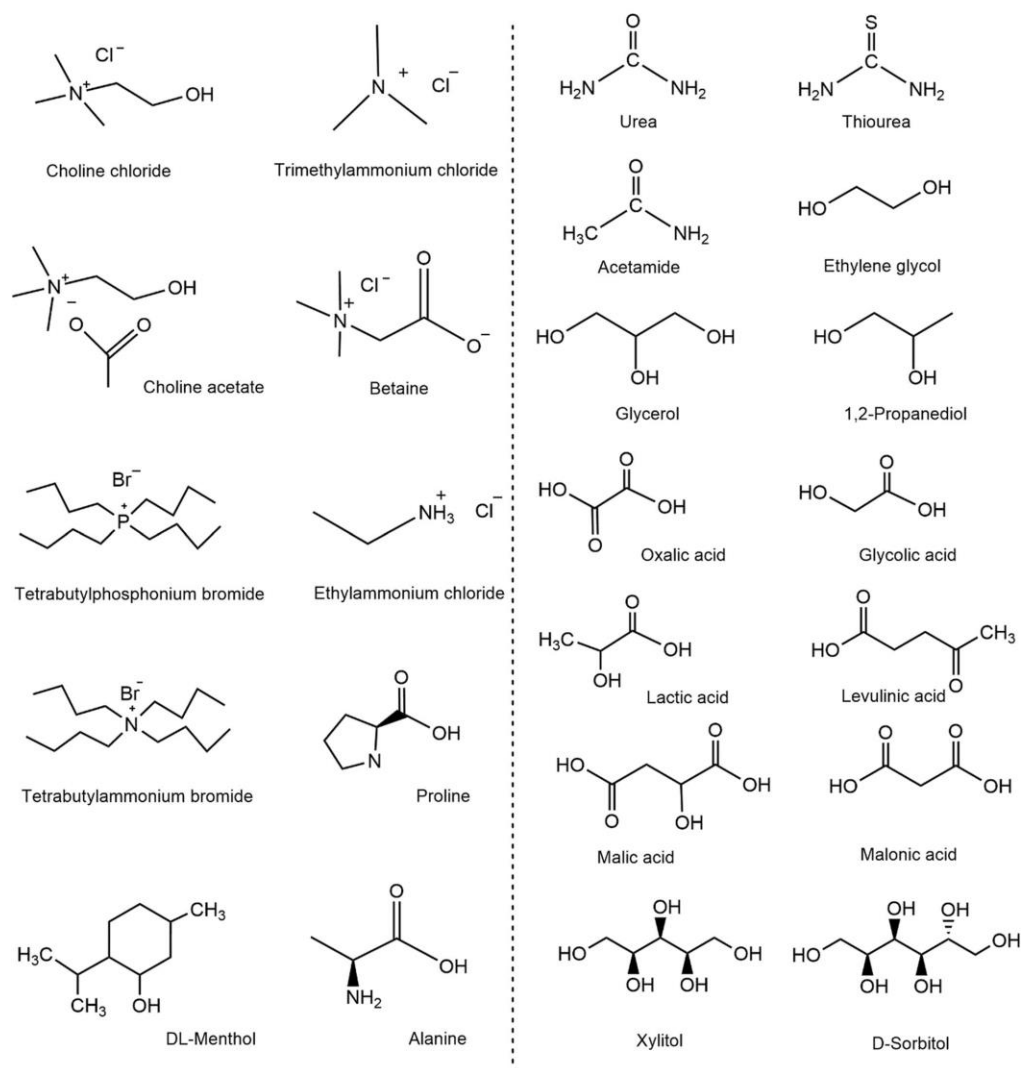


Figure I-7 : Accepteurs de liaisons hydrogène et donneurs de liaisons hydrogène utilisés pour la préparation de solvants eutectiques profonds

4. Métabolites secondaires présents dans les drêches

Les drêches de tomates renferment des molécules appartenant à plusieurs familles chimiques désignées par métabolites secondaires tels que les caroténoïdes, polyphénols, tannins et flavonoïdes. Le **tableau I-3** (page 36) répertorie les différentes méthodes d'extraction qui sont décrites dans la littérature. Les molécules ainsi extraites sont à l'origine de propriétés antioxydantes qui peuvent varier suivant qu'il s'agit de substances pures ou en présence d'autres métabolites.

Certains auteurs ont détecté une activité antioxydante de drêches de tomates due à la présence de phénols et de flavonoïdes. D'autres auteurs suggèrent que les caroténoïdes aussi, dont le lycopène et le β -carotène peuvent être à l'origine de cette activité [17], [20], [22].

4.1. Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules répandues dans le règne végétal. Leur structure comporte un ou plusieurs noyaux aromatiques portant un ou plusieurs groupements hydroxyles [37]. On distingue 4 sous-familles, les phénols simples, les flavonoïdes, les acides phénoliques et les polyphénols non flavonoïdes (**figure I- 8**).

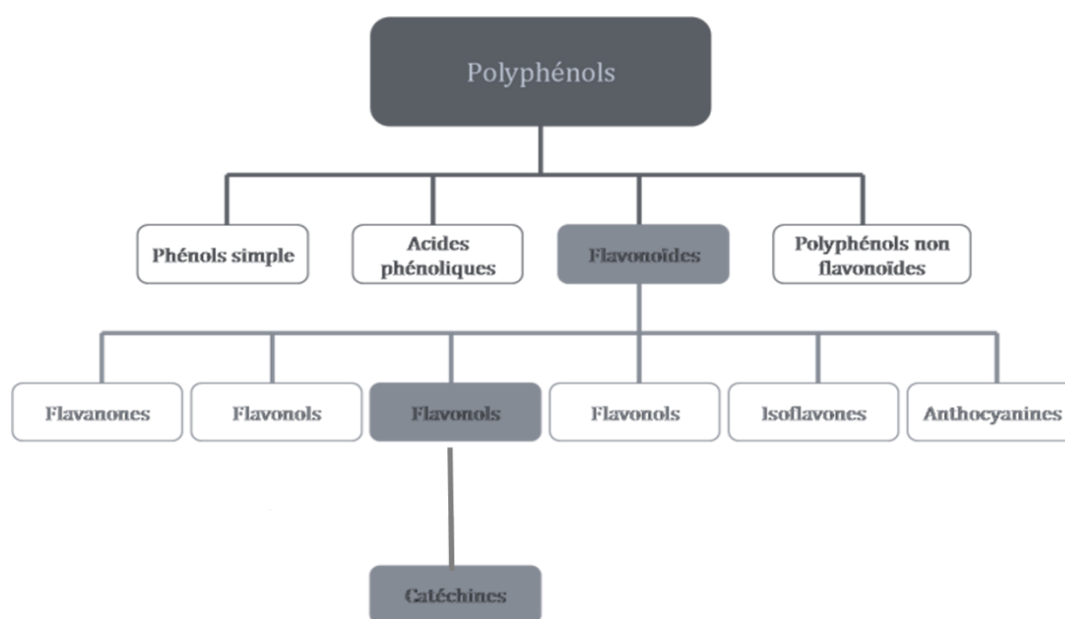


Figure I-8 : Sous-familles de polyphénols

4.2. Les flavonoïdes

La structure des flavonoïdes est basée sur deux cycles aromatiques A et B reliés par un cycle C. La substitution du cycle C détermine les principales classes de flavonoïdes. Les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones. Ceux dans lesquels le cycle B est relié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes. Lorsque le cycle B est relié en position 2 sont subdivisés en plusieurs sous-groupes : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanols ou catéchines, les anthocyanes et les chalcones (**figure I-9**).

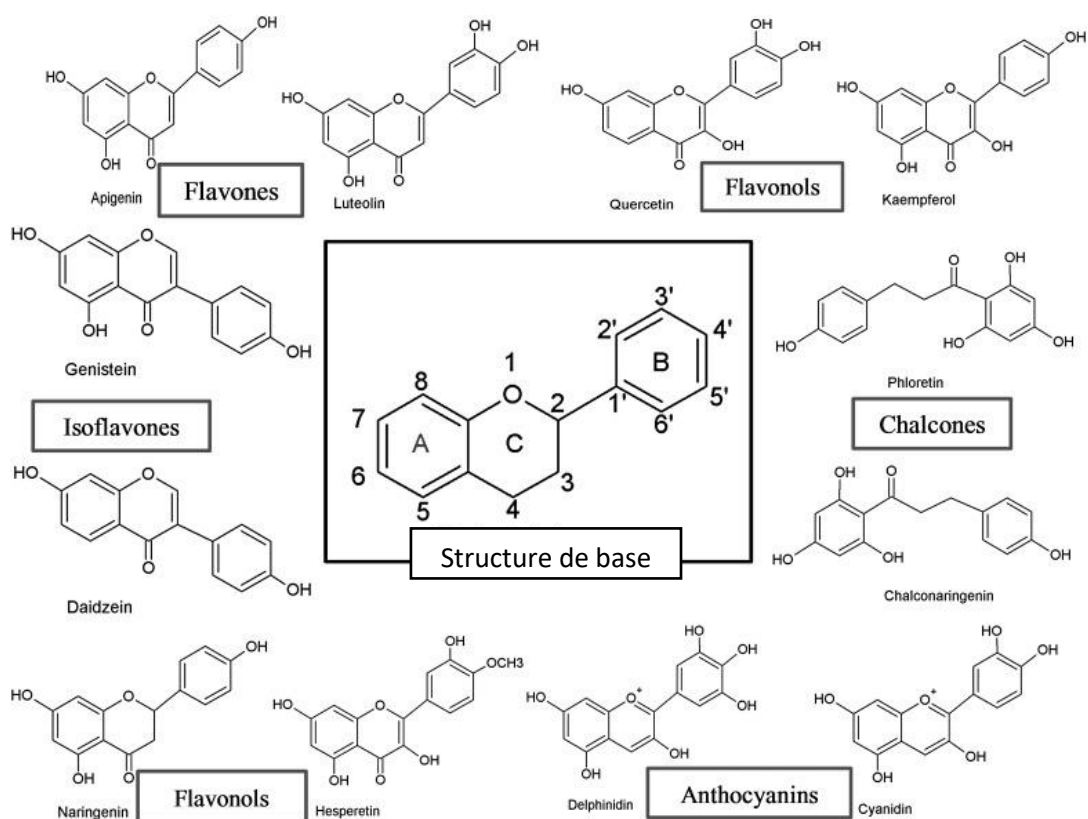
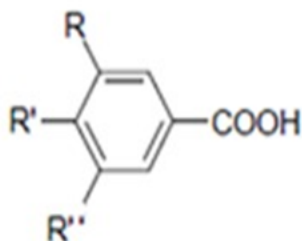


Figure I-9 : Structure de base des flavonoïdes et de leurs sous-classes [38]

4.3. Les acides phénoliques

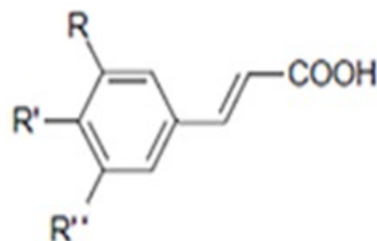
Les acides phénoliques sont des dérivés de l'acide hydrocinnamique et de l'acide hydrobenzoïque, comportant un nombre variable de groupement hydroxyle sur le cycle aromatique. Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique comprennent les acides cinnamique, férulique, caféique, p-coumarique et sinapique. Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque sont constitués des acides benzoïque, gallique, vanillique, syringique, protocatéchique et p-hydroxybenzoïque (figure I-10).

Dérivés des acides hydroxybenzoïques



R=R'=R''=H : acide benzoïque
 R=R''=H, R'=OH : acide p-hydroxy benzoïque
 R=R'=OH, R''=H : acide protocatechuique
 R=OCH₃, R'=OH, R''=H : acide vanillique
 R=R'=R''=OH : acide gallique
 R=R''=OCH₃, R'=OH : acide syringique

Dérivés des acides hydroxycinnamiques



R=R'=R''=H : acide cinnamique
 R=R''=H, R'=OH : acide p-coumarique
 R=R'=OH, R''=H : acide caféique
 R=OCH₃, R'=OH, R''=H : acide ferulique
 R=R''=OCH₃, R'=OH : acide sinapique

Figure I-10 : Structure de base des principaux acides phénoliques [39]

4.4. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes font partie de composés synthétisés par les plantes et présents dans les fruits et légumes et responsables des couleurs jaune, orange ou rouge. Il s'agit de tétraterpénoïdes, les plus abondants étant le β -carotène, l' α -carotène, le lycopène, la lutéine et la cryptoxanthine [40]. Ces pigments lipophiles sont divisés en deux familles principales selon leur composition chimique: les carotènes hydrocarbonés et les xanthophylles contenant l'oxygène sous la forme de fonctions cétone, alcool, ester [41], représentés dans la **figure I-11**. Les caroténoïdes grâce à la conjugaison de leurs doubles liaisons sont capables de désactiver l'action des radicaux libres. Ils neutralisent efficacement l'oxygène singulet, un radical libre particulièrement agressif [41, 42].

Le lycopène, principal caroténoïde des drêches possède des propriétés antioxydantes particulièrement intéressantes, et un intérêt pour lutter contre certaines maladies chroniques [43].

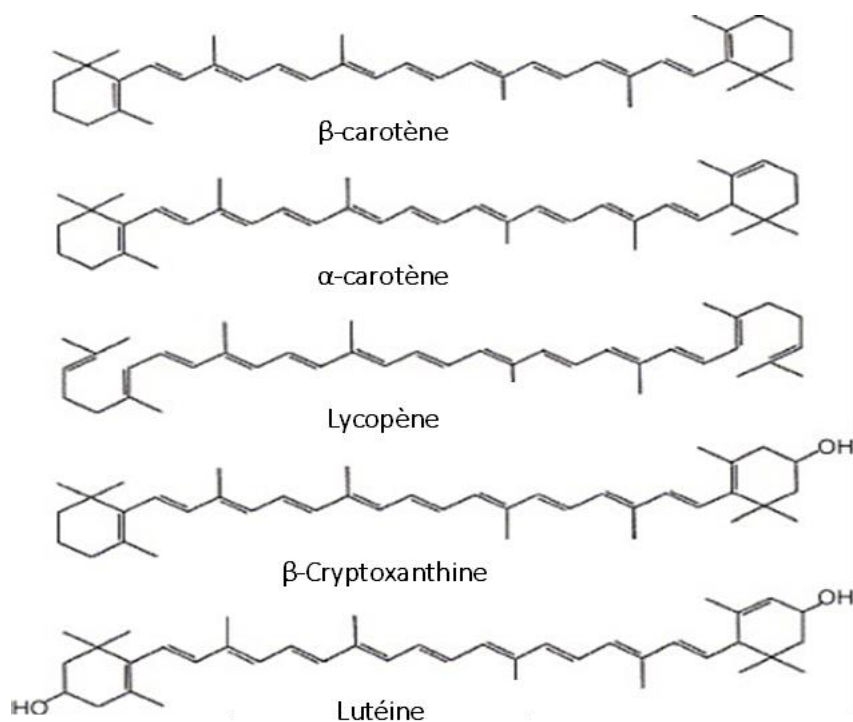


Figure I-11 : Structure chimique de plusieurs caroténoïdes [40]

5. Propriétés biologiques de molécules issues des drêches

Les travaux antérieurs montrent que les tomates sont riches en molécules appartenant à différentes familles : les caroténoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les protéines, les polysaccharides et les acides gras. Une grande partie de ces molécules sont présentes au sein des drêches résultant de la transformation des tomates. Certains métabolites contenus dans les drêches sont déjà connus pour leur bénéfice sur la santé.

Par exemple, **l'acide dihydroxy hexadécanoïque**, acide gras en C16 présent dans les peaux de tomates a un effet de stimulation des défenses naturelles face à certaines maladies telles que le mildiou de la pomme de terre et de la vigne, la septoriose du blé, ou encore la tavelure des pommiers. Son utilisation pourrait permettre de réduire **de 20 à 50 %** l'utilisation de fongicides de synthèse selon la société française SDP spécialisée dans le développement d'adjuvants et de stimulants pour l'agriculture « de la formulation à la mise sur le marché ». **Les pectines** trouvent différentes applications dans l'agro-alimentaire pour leurs propriétés gélifiantes et antimicrobiennes ou le domaine pharmaceutique du fait de leurs propriétés filmogènes, antimicrobiennes et cicatrisantes [44, 45].

Le **tableau I-3** montre que les activités anti-oxydantes des extraits de drêches proviennent à la fois de leurs teneurs en caroténoïdes (et en particulier en lycopène) et de certains phénols et flavonoïdes identifiés.

Le **tableau I-4** montrent les propriétés thérapeutiques détectées pour certaines fractions obtenues à partir des drêches ou des peaux de tomates : activités anti-oxydantes, activités anti-inflammatoires, activités antidiabétiques, activités antivirales et anticancéreuses sont mentionnées.

Ainsi, **les polyphénols** et les flavonoïdes sont connus pour leurs effets positifs sur la santé, notamment leur activité antioxydante et activités anti-inflammatoires selon [Abbasi-Parizad et al. \[46\]](#). De plus, [Gaafar et al. \[56\]](#) ont mis en évidence une activité antivirale contre *avian influenza* pour un extrait riche en acides phénoliques.

Les caroténoïdes agissent comme antioxydants naturels en piégeant les espèces réactives de l'oxygène et interagissent en synergie avec d'autres antioxydants pour protéger les cellules et les tissus de dommages oxydatifs [42]. [Campestrini et al. \[47\]](#) ont également montré une activité antiprolifération vis-à-vis de cellules cancéreuses pour certains caroténoïdes présents dans les extraits de peaux et pulpe de tomates. [Gheonea et al. \[22\]](#) ont mesuré une activité antidiabétique pour les fractions riches en lycopène obtenues à partir de peaux de tomate.

Les activités mesurées peuvent dépendre de la sélectivité des solvants d'extraction, des synergies entre molécules et de la matière première de départ (origine et variété des plants, composition des drêches).

6. Conception d'écomatériaux

L'utilisation de biopolymères pour la fabrication d'emballage ou pour le renfort de matériaux composites répond à des préoccupations de développement durable. La cellulose a un rôle important comme renfort mécanique alors que les hémicelluloses, les sucres libres et les protéines peuvent être utilisées comme liants internes [48].

Concernant les drêches, des films hydrophobes ont été conçus à partir des polyesters de la cutine pour servir de revêtements ou de films d'emballage [49, 50].

[Benitez et al. \[5\]](#) ont réalisé une hydrolyse alcaline des polyesters contenus dans les drêches pour l'obtention des acides gras puis ont effectué une polycondensation par fusion de cette fraction hydrolysée, sans catalyseur à 150°C. [Tedeschi et al. \[49\]](#) ont préparé des films reproduisant la structure des cuticules des plantes en mélangeant les acides gras polyhydroxylés obtenus à partir des drêches, avec de l'alginate de sodium, en présence d'un mélange eau/éthanol à 60°C. Le film est obtenu par « casting » c'est-à-dire par évaporation du solvant.

Manrich et al. [50] ont extrait la cutine (biopolyesters) des drêches par autoclave et l'ont mélangé à de la pectine en contrôlant le pH, pour obtenir un film résistant à l'eau. On peut citer également le programme européen BIOPROTO (Bioplastic production from tomato peel residues), visant à concevoir un bioplastique mimant la structure de la cuticule à base d'acide dihydroxy hexadécanoïque issu des peaux de tomates, pour réaliser des matériaux d'emballage. A notre connaissance, il n'existe pas de travaux faisant état de l'utilisation des biopolymères de drêches de tomate pour la préparation d'agromatériaux thermopressés. C'est cette voie que nous avons choisi de mettre en œuvre dans le cadre des travaux de thèse.

7. Conclusion

L'étude bibliographique a permis de faire l'inventaire des informations disponibles concernant l'utilisation des drêches de tomates comme source de molécules d'intérêt pour des applications thérapeutiques et cosmétique. L'utilisation des biopolymères des drêches pour la conception de matériaux a été peu étudiée. Le projet de thèse vise donc à proposer un schéma de valorisation des drêches en cascade, impliquant des procédés écocompatibles pour obtenir des fractions bioactives et des matériaux.

Cette étude a permis de cerner les enjeux du projet dans un contexte plus large de développement durable mais également d'identifier les principaux verrous scientifiques et technologiques. Sur la base de ce travail, il se dégage les principales questions scientifiques :

- Quelles stratégies mettre en place pour valoriser l'ensemble des constituants de drêches ?
- Quels procédés éco-responsables et quelles conditions d'extraction choisir pour l'obtention de fractions d'intérêt ?
- Quels sont les assemblages de molécules à l'origine des propriétés thérapeutiques étudiées? et y a-t-il un avantage à utiliser les extraits bruts ?
- Quel procédé peut-on proposer pour la mise en forme des biopolymères des drêches en agromatériaux fonctionnels ?

Afin de pouvoir répondre à ces questions, plusieurs champs disciplinaires ont été mobilisés notamment les procédés, la chimie analytique, et la biologie. Ainsi, ce travail s'est articulé selon les axes suivants :

- Eco-extraction visant l'étude des propriétés thérapeutiques,
- Eco-extraction dédiée à la formulation cosmétique,
- Analyses chimiques des compositions avec différentes matrices,

- Obtention et caractérisation d'agromatériaux et de matériaux composites à base de drêches.

Tableau I-3: Obtention de métabolites à partir des drêches

Références	Méthodes d'extraction	Métabolites identifiés	Propriétés
Nour et al. [17]	Agitation 15 min à 20°C Acétone/hexane (4:6)	Lycopène : 0,51 mg/g β-carotène : 0,095 mg/g	Activité antioxydante (DPPH) 6,8 mmol Trolox/kg
	Sonication 50 min à TA Méthanol	Phénols : 1,23 mg EAG/g Flavonoïdes 0,42 mg EQ/g	
Abbasi-Parizad et al. [51]	Agitation à TA (24 h) Ethanol (70%)/eau	Phénols : 3,5 à 6,8 mg EAG/g MS	Activité anti-oxydante (DPPH) 21,47 μmol ET/ g MS Activité anti-inflammatoire (cellules caco2) % I = 62,8%
Poojary et al. [18]	Agitation à 20 C, 40 min 25% acétone dans n-hexane (v/v)	All-trans-lycopène : 0,038 mg/g	-
Sengkhampan et Phonkerd [20]	Sonication à 50 °C pour 50 min 95% alcool éthylique	Caroténoïdes 134,30 mg β-carotène/g MS	Activité anti-oxydante (DPPH) % I = 85,9%
Azabou et al. [52]	Agitation à 25 °C, 6 h à 150 rpm Ethanol (99%)	Phénols : 199 mg EAG/g extrait Flavonoïdes : 102 mg EQ/g extrait Lycopène : 3,7 mg/100 g extrait	Activité anti-oxydante (DPPH) % I = 80,6% de à 400 μg/mL d'extrait
Strati et al. [19]	Agitation	Caroténoïdes :	-
	Lactate d'éthyle	243 mg/kg MS	
	Acétone	51,9 mg/kg MS	
	Acétate d'éthyle	46,2 mg/kg MS	
	Hexane	34,5 mg/kg MS	
	Ethanol	17,6 mg/kg MS	

Haddadin et al. [53]	CO₂-SC 4000 psi, 80°C avec 8 ml de CO ₂ /min	Lycopène : 82,5%	-
Machmudah et al. [27]	CO₂-SC 40 MPa 90°C 4 ml de CO ₂ /min	Lycopène : 56%	-
Kehili et al. [25]	CO₂-SC 500 bars 80 °C 6 g de CO ₂ /min	Lycopène : 60 % β-carotène : 58 %	-
Zhang et al. [26]	CO₂-SC 40 MPa 60 °C	Lycopène : 32,52 g/100 g MS β-carotène et lutéine	-
Zuorro [54] (pelure des tomates)	Agitation à 40°C, 30 min 30.6% hexane, 32.8% éthanol et 36.6% acétone	Lycopène 272 mg/ 100 g MS	Activité anti-oxydante (Trolox) 1582 µmol ET/g
Rahimi et al. [21]	Extraction par ultrasons Solvant : huile de tournesol 70 W pendant 10 min	Lycopène 91,5 mg/100 g	Activité anti-oxydante (DPPH) IC ₅₀ = 278 µg/mL
	Extraction par solvant à TA pendant 1 h -hexane -hexane: méthanol: acétone volume (2:1:1)	Lycopène 63,7 mg/100 g 74,9 mg/100 g	
Catalkaya et al. [14]	Traitement enzymatique : cellulase/pectinase, 5 h à 40 °C Extraction par acétone : acétate d'éthyle, 1 h à TA	Lycopène 11,5 mg lycopène/g	-
Pellicanò et al. [11]	CO₂-SC 550 bar 60°C 2ml de CO ₂ /min	Lycopène : 0,9 mg/100 g β-carotène : 1,5 mg/100 g, Naringénin : 84 mg/kg MS Acide caféique : 26 mg/kg MS Acide vanillique : 2,7 mg/kg MS Acide ferulique : 7,9 mg/kg MS Acide p-coumarique : 10 mg/kg MS Acide chlorogénique : 4 mg/kg MS Quercétine :	Activité anti-oxydante (DPPH) 0,08 mM Trolox (ABTS) 0,11 mM Trolox

		<p>6,9 mg/kg MS Epicatchine : 2,8 mg/kg MS Catéchine : 4 mg/kg MS Naringénin : 84 mg/kg MS</p>	
Huang et al. [55]	<p>CO₂-SC 40 MPa 57°C, 2 h</p>	<p>Lycopène : 28,7 mg/100 g MS</p>	<p>Activité antioxydante (DPPH) IC₅₀ = 0,081 mg/ml</p>
Ghenonea et al. [22]	<p>Extraction assistée par ultrasons 120 mL de <i>n</i>-hexane-acétone (3:1) 30 min à 50 C</p>	<p>Lycopène : 27.4 mg lycopène/g MS</p>	<p>Activité anti-oxydante (DPPH) 2.2 mMol Trolox/g MS.</p>

Tableau I-4 : Propriétés thérapeutiques des molécules identifiées, issues des drêches de tomates

Matériau première	Méthodes d'extraction	Activité biologique	Molécules d'intérêts identifiées	Références
Drêches de tomates	Sonication 1 h Dans le méthanol	Activité anti-inflammatoire : <i>In vitro</i> sur les cellules humaines (Caco-2) 15 et 25 µg/ml IC ₅₀ = 0,13 - 2,53 µg/ml	Acides phénoliques (260 nm): Acide gallique, chlorogénique, vanillique, caféique, férulique, p-coumarique, sinapique, cinnamique. Flavonoïdes (350 nm): Quercétine, naringénin, apigénin, myrecétine, kaempférol.	Abbasi-Parizad et al. [46]
Drêches de tomates	Macération 48 h à TA Eau Éthanol (80%) Acétone (80%)	Activité antivirale : Anti avian influenza A H5N1 400 µg extrait/µl d'acétone % I = 71 % inhibition	Composés phénoliques : Acide ellagique, tannique, gallique chlorogénique vanillique benzoïque, Pyrogallol, Genistein, Acacetin	Gaafar et al. [56]
Peau de tomates	Ultrasonication à 50 °C pour 30 min <i>n</i> -hexane-acétone (3:1)	Activité antidiabétique : Lycopène : 8,5 mg/ml Inhibition <i>in vitro</i> de % I = 79,89 % (α-amylase) % I = 5,80% (α-glucosidase)	-	Gheonea et al. [22]
Peau + pulpe tomates	Agitation 20 min Acétone: hexane (4:6, v:v) (10 mg/ml)	Activité anticancéreuse : MCF-7 NCI-H460	Caroténoïdes: Lutéine 13 et 15-cis-β carotène	Campestrini et al. [47]

		HeLa HepG2 (IC ₅₀ = 51 à 182 µg/ml	Trans-β-carotène Neurosporène Lycopène	
Drêches de tomates Lycopène : 100 µg/ml	T = 20 °C, 24 h Acétate d'éthyle (200 g/180 ml)	<i>Activité anticancéreuse :</i> % I = 85 % (HepG-2), % I = 69 % (MCF-7) % I = 58 % (HCT-116)	-	Ahmed et al. [57]

Références bibliographique

- [1] Lu Z, Wang J, Gao R, Ye F, Zhao G. Sustainable valorisation of tomato pomace: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*. 2019; 86: 172-187.
- [2] Farcas A, Socaci S, Michiu D, Biris SE, Tofana M. Tomato waste as a source of biologically active compounds. *Food Science and Technology*. 2019; 76(1): 85-88.
- [3] Casa M, Miccio M, De Feo G, Paulillo A, Chirone R, Paulillo D *et al.* A brief overview on valorization of industrial tomato by-products using the biorefinery cascade approach. *Multidisciplinary Journal for Waste Resources & Residues*. 2021; 15: 31-39.
- [4] Grassino AN, Brncić M, Vikić-Topić D, Roca S, Dent M, Brncić SR. Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*. 2016; 198: 93-100.
- [5] Benitez JJ, Castillo PM, del Río JC, León-Camacho M, Domínguez E, Heredia A *et al.* Valorization of tomato processing by-products: Fatty acid extraction and production of bio-based materials. *Materials*. 2018; 11(11): 2211.
- [6] Dranca F, Oroian M. Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. *Food Research International*. 2018; 113: 327-350.
- [7] Mellinas C, Ramos M, Jiménez A, Carrigos MC. Recent trends in the use of pectin from agro-waste residues as a natural-based biopolymer for food packaging applications. *Materials*. 2020; 13(3): 673.
- [8] Cao L, Yu IKM, Liu Y, Ruan X, Tsang DCW, Hunt AJ *et al.* Lignin valorization for the production of renewable chemicals: State-of-the-art review and future prospects. *Bioresource Technology*. 2018; 269: 465-475.
- [9] Szymanska-Chargot M, Chylinska M, Gdula K, Koziol A, Zdunek A. Isolation and characterization of cellulose from different fruit and vegetable pomaces. *Polymers*. 2017; 9(10): 495.
- [10] Latlief SJ, Knorr D. Tomato seed protein concentrates effects of methods of recovery upon yield and compositional characteristics. *Journal of Food Science*. 1983; 48: 1583-1586.

- [11] Pellicanò T, Sicari V, Loizzo M, Leporini MR, Falco T, Poiana M. Optimizing the supercritical fluid extraction process of bioactive compounds from processed tomato skin by-products. *Food Science and Technology*. 2020; 40(3): 692–697.
- [12] Valenti B, Luciano G, Pauselli M, Mattioli S, Biondi L, Priolo A *et al.* Dried tomato pomace supplementation to reduce lamb concentrate intake: Effects on growth performance and meat quality. *Meat Science*. 2018; 145: 63-70.
- [13] Vagi E, Simandi B, Vászrhelyiné KP, Daood H, Kery A, Doleschall F *et al.* Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids, tocopherols and sitosterols from industrial tomato by-products. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2007; 40: 218-226.
- [14] Catalkaya G, Kahveci D. Optimization of enzyme assisted extraction of lycopene from industrial tomato waste. *Separation and Purification Technology*. 2019; 219: 55-63.
- [15] Rahimpour S, Dinani ST. Lycopene extraction from tomato processing waste using ultrasound and cell-wall degrading enzymes. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2018; 12: 2394–2403.
- [16] Papaioannou EH. Lycopene recovery from tomato peel under mild conditions assisted by enzymatic pre-treatment and non-ionic surfactants. *The Journal of the Polish Biochemical Society and of the Polish Academy of Sciences*. 2012; 59: 71–74.
- [17] Nour V, Panaite TD, Ropota M, Turcu R, Trandafir I, Corbu AR. Nutritional and bioactive compounds in dried tomato processing waste. *CyTA - Journal of Food*. 2018; 16: 222–229.
- [18] Poojary MM, Passamonti P. Optimization of extraction of high purity all-*trans*-lycopene from tomato pulp waste. *Food Chemistry*. 2015; 188: 84-91.
- [19] Strati IF, Oreopoulou V. Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. *International journal of Food Science and Technology*. 2011; 46: 23-29.
- [20] Sengkhampan N, Phonkerd N. Phenolic compound extraction from industrial tomato waste by ultrasound-assisted extraction. *International Conference on Engineering, Applied Sciences and Technology*. 2019; 639: 012040.
- [21] Rahimi S, Mikani M. Lycopene green ultrasound-assisted extraction using edible oil accompany with response surface methodology (RSM) optimization performance: Application in tomato processing wastes. *Microchemical Journal*. 2019; 146: 1033-1042.

- [22] Gheonea I, Aprodu I, Circiumaru A, Rapeanu G, Brahim GE, Stanciuc N. Microencapsulation of lycopene from tomatoes peels by complex coacervation and freeze-drying: Evidences on phytochemical profile, stability and food applications. *Journal of Food Engineering*. 2021; 288: 110166.
- [23] Lasunon P, Phonkerd N, Tettawong P, Sengkhampan N. Effect of microwave-assisted extraction on bioactive compounds from industrial tomato waste and its antioxidant activity. *Food Research*. 2021; 5: 468-474.
- [24] de Caro P, Thiebaud Roux S. Les Biosolvants: conception, propriétés et aspects environnementaux, *Techniques de l'ingénieur*. 2015. CHV4020.
- [25] Kehili M, Kammlott M, Choura S, Zammel A, Zetzi C, Smirnova I *et al.* Supercritical CO₂ extraction and antioxidant activity of lycopene and β -carotene-enriched oleoresin from tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) peels by-product of a Tunisian industry. *Food and Bioproducts Processing*. 2017; 102: 340-349.
- [26] Zhang K, Jiang H, Ren Y. The effect of technical parameters on lycopene extraction in supercritical fluid extraction from freeze-dried tomato pomace (peels and seeds). *Advanced Materials Research*. 2011; 236-238: 2868-2871.
- [27] Machmudah S, Zakaria, Winardi S, Sasaki M, Goto M, Kusumoto N *et al.* Lycopene extraction from tomato peel by-product containing tomato seed using supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*. 2012; 108: 290-296.
- [28] Shishov A, Bulatov A, Locatelli M, Carradori S, Andruch V. Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry. A review. *Microchemical Journal*. 2017; 135: 33-38.
- [29] Li X, Ho Row K. Development of deep eutectic solvents applied in extraction and separation. *Journal of Separation Science*. 2016; 39: 3505-3520.
- [30] Hansen FA, Pedersen-Bjergaard S. Emerging extraction strategies in analytical chemistry. *Analytical Chemistry*. 2020; 92(1): 1,2-15.
- [31] Socas-Rodriguez B, Torres-Cornejo MV, Alvarez-Rivera G, Mendiola JA. Deep eutectic solvents for the extraction of bioactive compounds from natural sources and agricultural by-products. *Applied Sciences*. 2021; 11: 4897.
- [32] Kalhor P, Ghandi K. Deep eutectic solvents for pretreatment, extraction, and catalysis of biomass and food waste. *Molecules*. 2019; 24(22): 4012.

- [33] Duarte AC, Ferreira AD, Barreiros S, Cabrita E, Reis RL, Paiva A. A comparison between pure active pharmaceutical ingredients and therapeutic deep eutectic solvents: solubility and permeability studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017; 114: 296-304.
- [34] Lazzarini C, Casadei E, Valli E, Tura M, Ragni L, Bendini A *et al.* Sustainable drying and green deep eutectic extraction of carotenoids from tomato pomace. *Foods*. 2022; 11(3): 405.
- [35] Silva Y, Ferreira T, Jiao G, Brooks M. Sustainable approach for lycopene extraction from tomato processing by-product using hydrophobic eutectic solvents. *Journal of Food Science and Technology*. 2019; 56: 1649-1654.
- [36] El Achkar T, Greige-Gerges H, Fourmentin S. Basics and properties of deep eutectic solvents: a review. *Environnemental Chemistry Letters*. 2021; 19: 3397-3408.
- [37] Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 2006; 99: 191-203.
- [38] Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 2016; 5: e47.
- [39] Teodoro GR, Ellepola K, Seneviratne CJ, Koga-Ito CY. Potential use of phenolic acids as Anti-Candida agents: A review. *Frontiers in Microbiology*. 2015; 6: 1420.
- [40] Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*. 2007; 55(3): 207-216.
- [41] Saini RK, Keum Y. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry*. 2018; 240: 90-103.
- [42] Trombino S, Cassano R, Procopio D, Di Gioia MD, Barone E. Valorization of tomato waste as a source of carotenoids. *Molecules*. 2021; 26(16): 5062.
- [43] Driouich R, Bousselmi O, Cheri A. Valorization of tomato processing waste for lycopene extraction. *Mediterranean Journal of Chemistry*. 2016; 6(1): 686-691.
- [44] Freitas C, Coimbra J, Souza V, Sousa R. Structure and applications of pectin in food, Biomedical, and Pharmaceutical Industry: A Review. *Coatings*. 2021; 11(8): 922.

- [45] Tommonaro G, Poli A, De Rosa S, Nicolaus B. Tomato derived polysaccharides for biotechnological applications: Chemical and biological approaches. *Molecules*. 2008; 13(6): 1384-1398.
- [46] Abbasi-Parizad P, De Nisi P, Adani F, Pepé Sciarria T, Squillace P, Scarafoni A *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory activities of the crude extracts of raw and fermented tomato pomace and their correlations with aglycate polyphenols. *Antioxidants*. 2020; 9(2): 179.
- [47] Campestrini L, Melo P, Peres L, Calhelha R, Ferreira I, Alencar S. A new variety of purple tomato as a rich source of bioactive carotenoids and its potential health benefits. *Food Science and Nutrition*. 2019; 5: e02831.
- [48] Tajuddin M, Ahmad Z, Ismail H. A review of natural fibers and processing operations for the production of binderless boards. *BioResources*. 2016; 11(2): 5600-5617.
- [49] Tedeschi G, Benitez J, Ceseracciu L, Dastmalchi K, Itin B, Stark R *et al.* Sustainable Fabrication of Plant Cuticle-Like Packaging Films from Tomato Pomace Agro-Waste, Beeswax, and Alginate. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 2018, 6, 14955-14966.
- [50] Manrich A, Moreira F, Otoni C, Lorevice M, Martins M, Mattoso L. Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin. *Carbohydrate Polymers*. 2017; 164: 83-91.
- [51] Abbasi-Parizad P, De Nisi P, Scaglia B, Scarafoni A, Pilu S, Adani F. Recovery of phenolic compounds from agro-industrial by-products: Evaluating antiradical activities and immunomodulatory properties. *Food and Bioproducts Processing*. 2021; 127: 338-348.
- [52] Azabou S, Louati I, Ben Taheur F, Nasri M, Mechichi T. Towards sustainable management of tomato pomace through the recovery of valuable compounds and sequential production of low-cost biosorbent. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020; 27(31): 39402–39412.
- [53] Haddadin MSY, Haddadin JS. Lycopene extraction from tomato pomace with supercritical carbon dioxide: Effect of pressures, temperatures and CO₂ flow rates and evaluation of antioxidant activity and stability of lycopene. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2015; 14: 942-956.
- [54] Zuorro A. Enhanced lycopene extraction from tomato peels by optimized mixed-polarity solvent mixtures. *Molecules*. 2020; 25(9): 2038.

[55] Huang W, Li Z, Niu H, Li D, Zhang J. Optimization of operating parameters for supercritical carbon dioxide extraction of lycopene by response surface methodology. *Journal of Food Engineering*. 2008; 89: 298-302.

[56] Gaafar A, Asker MS, Salama Z, Bagato O, Ali M. *In-vitro*, antiviral, antimicrobial and antioxidant potential activity of tomato pomace. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2015; 32(2): 262-272.

[57] Ahmed HA, Salama ZA, Salem SH, Aly HF, Nassrallah A, Abou-Elella F et al. Lycopene nanoparticles ameliorate the antioxidants, antimicrobial and anticancer potencies of tomato pomace. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2021; 64: 3739 – 3749.

Chapitre II : Bioactivités in vitro des extraits isolés des drêches de tomates

1.	Introduction	48
2.	Méthodologie d'extraction	49
3.	Teneurs totales en polyphénols (TTP).....	52
4.	Teneurs totales en caroténoïdes (TTC).....	54
5.	Activité anti-radicalaire	57
6.	Analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC-DAD	58
7.	Activités biologiques	58
7.1.	Evaluation de l'activité antidiabétique.....	59
7.2.	Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	61
7.3.	Cytotoxicité vis-à-vis des lignées cellulaires tumorales (HCT-116).....	62
7.4.	Évaluation de l'activité antivirale <i>in vitro</i> contre le ZIKV	63
8.	Conclusion.....	65
9.	Partie expérimentale	66
9.1.	Préparation et prétraitement de drêches de tomates	66
9.2.	Méthodes d'extraction	67
9.2.1.	Extraction par macération à froid	67
9.2.2.	Extraction par CO ₂ -SC	68
9.3.	Détermination de la composition des extraits	68
9.3.1.	Teneur totale en polyphénols (TTP).....	68
9.3.2.	Teneur totale en flavonoïdes (TTF).....	69
9.3.3.	Teneur totale en caroténoïdes (TTC).....	69
9.4.	Détermination de l'activité biologique des extraits	69
9.4.1.	Activité antioxydante déterminée par DPPH.....	69
9.4.2.	Activités antidiabétiques	70
9.4.3.	Activité anti-inflammatoire	71
9.4.4.	Essai de viabilité cellulaire HCT-116.....	72
9.4.5.	Mesures par cytométrie de flux	72
9.5.	Analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC-DAD)	73
9.6.	Analyse statistique.....	73

1. Introduction

L'exploitation des ressources naturelles génère souvent des problématiques d'extraction de composés cibles. Les procédés d'extraction mis en jeu ont longtemps été sélectionnés essentiellement sur les seuls critères du rendement. Plus récemment, la prise en compte des critères environnementaux et de la qualité des extraits est devenue incontournable. Au sein d'une bioraffinerie, sera privilégiée une utilisation optimale de la biomasse ainsi que des procédés propres minimisant la production de déchets.

Les procédés d'extraction sélectionnés prennent en compte les exigences suivantes de la chimie verte : la réduction de la consommation de solvant voire l'absence de solvant organique, l'utilisation de solvants biosourcés à bas points d'ébullition, des procédés peu énergivores et l'absence de déchets. Pour l'obtention d'un extrait écolabellisé, seuls certains procédés sont autorisés par ECOCERT. Pour cela, cet organisme de certification est habilité à contrôler les procédés d'extraction pour la production d'ingrédients naturels.

L'état de l'art montre que les propriétés biologiques de composés issus de drêches sont généralement étudiées après avoir isolé une catégorie de composés, en particulier le lycopène, les caroténoïdes ou les polyphénols. A l'inverse, la présente étude est basée sur l'obtention de fractions regroupant un cocktail de molécules dont la synergie des propriétés peut conduire à des propriétés thérapeutiques intéressantes. Ainsi, la méthodologie est basée sur la sélection de procédés éocompatibles pour traiter les drêches et générer des fractions riches en molécules bioactives en vue de leur utilisation dans les domaines de la cosmétique et de la nutraceutique.

L'intérêt d'une étape de prétraitement avant la macération est d'évaluer, en particulier, le traitement oxydatif qui n'a jamais été testé avant une extraction par solvant. L'intérêt d'utiliser une étape de prétraitement mérite être précisé. Le procédé de macération a été choisi car minimisant les coûts énergétiques et les problèmes de sécurité. De plus, l'activité des molécules est préservée, sans compromettre l'efficacité des extractions. Comme décrit dans le chapitre I, l'extraction à l'aide de CO₂ supercritique permet de mettre en œuvre des conditions respectueuses de l'environnement et évite une étape de séparation du solvant. Les fractions isolées par ces deux techniques, ont été analysées par HPLC et caractérisées pour leurs propriétés antioxydantes (inhibition du DPPH) et leurs propriétés biologiques à savoir : activités anti-inflammatoires (inhibition de la 15-lipoxygénase), activités anti-prolifération des lignées cellulaires cancéreuses HCT 116, potentiel antidiabétique (inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase) et activités antivirales contre le virus Zika.

L'objectif des travaux est donc d'obtenir des fractions d'intérêt capables de limiter certains processus infectieux sans fractionnement préalable des molécules. Des analyses quantitatives par spectrophotométrie (teneurs totales en polyphénols et flavonoïdes et caroténoïdes) et des analyses qualitatives (HPLC-DAD) ont été réalisées pour identifier les catégories de métabolites présents dans les extraits.

2. Méthodologie d'extraction

Pour les macérations, les deux solvants organiques biosourcés, l'éthanol et l'acétate d'éthyle, sont des solvants labélisés GRAS « *Generally Recognized as Safe* », selon la classification de la Food Drug Administration (US-FDA) américaine basée sur des études toxicologiques. Ces solvants sont autorisés pour les opérations d'extraction et de purification dans l'industrie agro-alimentaire et l'industrie pharmaceutique (Fiches toxicologiques INRS n°18 et 48, 2022). En raison de leur faible toxicité, ils peuvent être des alternatives écologiques aux solvants organiques conventionnels. Grâce à leur faible viscosité, ils diffusent facilement au sein de la matière végétale [1].

L'éthanol est un solvant polaire et protique. Il est produit à partir du glucose par fermentation alcoolique ou à partir de l'amidon après une hydrolyse enzymatique et une fermentation alcoolique du saccharose, ou bien à partir de la biomasse lignocellulosique en utilisant une hydrolyse enzymatique nécessaire pour libérer les sucres en C6 et C5 et les rendre accessible à la saccharification enzymatique (cellulase et l'hémicellulase) pour la conversion en éthanol [1], [2]. La solubilité des composés phénoliques est élevée dans ce solvant polaire et protique, ce qui le rend adapté pour l'extraction de ces composés [3].

L'acétate d'éthyle est un solvant peu polaire capable de solubiliser les composés lipophiles. C'est un solvant biodégradable car capable de s'hydrolyser en éthanol et en acide acétique [1]. Il peut remplacer avantageusement le benzène, l'hexane ou le dichlorométhane pour les séparations en chromatographie. Cet ester produit à partir d'un procédé biologique impliquant certaines enzymes comme les lipases pour catalyser la réaction entre l'acide acétique et l'éthanol. Certaines levures peuvent également convertir l'éthanol en acétate d'éthyle [4]. L'acétate d'éthyle d'origine naturelle (CAS 141-78-6) est également autorisé comme ingrédient d'une composition parfumante [5].

La stratégie suivie pour préparer les extraits est présentée sur la **figure II-1**. Deux types de prétraitement en milieu aqueux ont été testés sur la moitié des échantillons de drêches. Les autres échantillons ont été traités directement par macération dans un solvant organique ou

placé dans un réacteur sous un flux de CO₂ supercritique. Une étape de prétraitement de la biomasse a été testée afin d'évaluer l'effet de la dépolymérisation sur la composition de l'extrait. Cette étape est réalisée à l'aide d'enzymes ou en conditions oxydantes. Le traitement chimique est basé sur une hydrolyse dans une solution tampon d'acide oxalique / oxalate de sodium. Ce prétraitement a été utilisé sur les drêches par [Grassino et al. \[6\]](#) pour réaliser la précipitation des pectines à partir du filtrat. Il faut noter qu'une étape de prétraitement préalable à une extraction par solvant, peut être à l'origine de la dégradation de certaines molécules ou de leur perte.

Les solvants et les compositions de solvants choisis (éthanol, acétate d'éthyle, et les mélanges éthanol: eau et éthanol: acétate d'éthyle) pour réaliser les macérations, ont des polarités variables. Il s'agit de solvants biosourcés de faibles toxicités, avec des points d'ébullition modérés (<100°C), afin de limiter l'énergie nécessaire à leur séparation par distillation. Les caroténoïdes ont une plus grande affinité avec les solvants lipophiles, alors que les polyphénols sont plutôt extraits dans des solvants polaires protiques. L'éthanol et l'eau ont la capacité de provoquer le gonflement de la cellulose, ce qui peut contribuer à une meilleure libération des métabolites. Les macérations à température ambiante ont été choisies pour leurs conditions d'économie d'énergie et pour leur facilité de mise en œuvre. Des extraits ont également été préparés avec CO₂-SC, une méthode qui est généralement efficace pour extraire les lipides et les molécules apolaires, telles que les caroténoïdes.

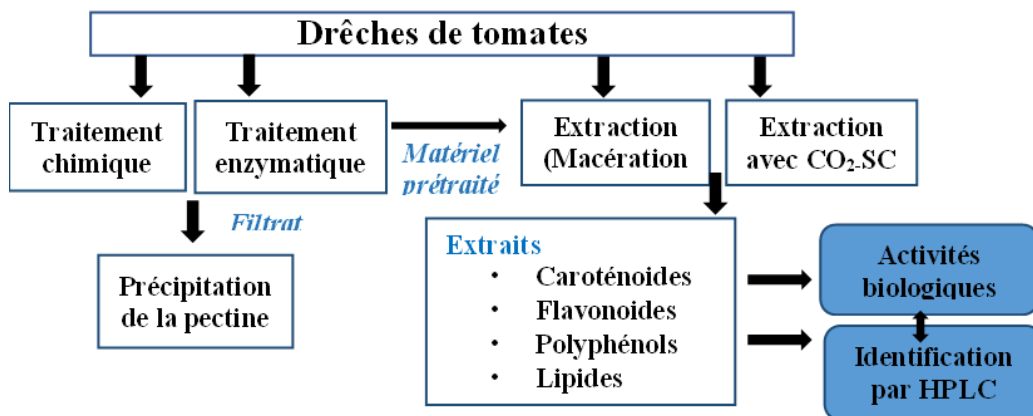


Figure II-1 : Stratégies pour générer des extraits de drêches de tomates sèches

Les rendements d'extraction présentés dans la **figure II-2** varient entre 1,2% et 5,0%. Un rendement de 5,0% a été obtenu avec la CO₂-SC après 100 minutes d'extraction à 80 g/min CO₂ et 200 bars. Une pression de 250 bars n'a pas permis d'augmenter le rendement d'extraction, c'est pourquoi nous avons conservé une pression de 200 bars. Par ailleurs, nous avons observé

qu'un broyage plus fin des drêches (particules < 2 mm) n'était pas favorable au rendement d'extraction, de par la formation de passage préférentiel du CO₂ [7].

La macération faite avec le mélange éthanol: eau a conduit à un rendement de 4,4%. Le prétraitement chimique a permis d'augmenter le rendement d'extraction à 4%, avec l'acétate d'éthyle, confirmant l'hydrolyse des polyesters et la libération des lipides. Le prétraitement enzymatique est plutôt favorable au rendement de macération dans l'éthanol. Une macération successive dans l'acétate d'éthyle puis dans l'éthanol a permis de récupérer deux fractions à partir du même échantillon de drêche, correspondant à un le rendement global de 5.9 g pour 100 g de drêches. Enfin, le mélange acétate d'éthyle: éthanol conduit à une légère augmentation du rendement (3.5 %), comparé aux rendements obtenus avec les solvants séparés (3,0 et 3,1%).

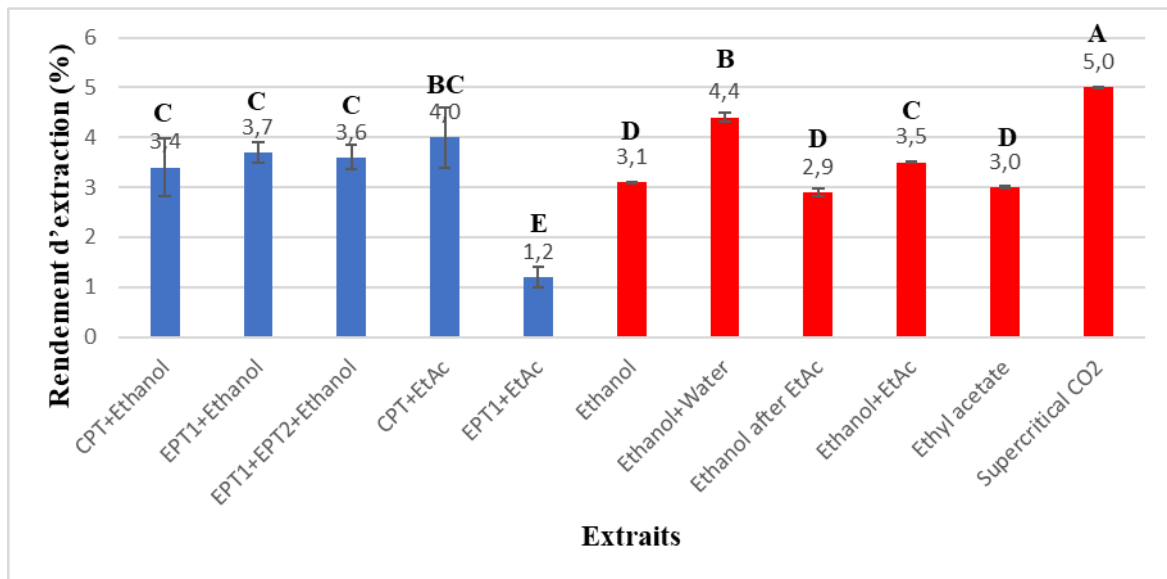


Figure II-2 : Rendements d'extraction de différents extraits de drêches

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase, EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle. Les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement). Chaque valeur est une moyenne de cinq répétitions

Les **tableaux II-1** et **II-2** présentent les bilans matière relatifs aux étapes d'extraction réalisées avec un prétraitement. L'erreur expérimentale est essentiellement attribuable aux possibles pertes de matières lors des manipulations. On note que l'erreur expérimentale calculée pour les expériences avec prétraitement chimique est tout à fait acceptable (< 5%), ce qui permet de valider nos résultats. Pour le prétraitement enzymatique, les quantités de matière première traitée étant beaucoup plus faibles (3 g au lieu de 16 g), l'erreur expérimentale est accrue. Ainsi,

les taux de matières hydrosolubles (32,8% et 33%) calculées (à partir des données issues du prétraitement chimique pour les deux solvants), sont très proches de la teneur en hydrosoluble mesurée expérimentalement (33%) (cf. chapitre 4). La quantité d'hydrosolubles augmente lorsque les prétraitements enzymatiques sont utilisés car ils permettent d'hydrolyser une partie des biopolymères en monosaccharides. L'action des deux enzymes conduit à des taux d'hydrosolubles similaires. Ces fractions d'hydrosolubles pourraient être également valorisées comme agent liant ou agent texturant au sein d'une formulation (matériaux, biocontrôle, cosmétique...).

Tableau II-1 : Bilan matière des extraits à l'éthanol

Extraction à l'éthanol	Prétraitement chimique	Prétraitement avec une cellulase	Prétraitement avec une pectinase
Taux d'hydrosolubles (%)	32,8 ± 0,5	60.6 ± 1,5	64.6 ± 1.6
Erreur expérimentale (%) (extraction)	1,4	13	18

Tableau II-2 : Bilan matière des extractions à l'acétate d'éthyle

Extraction à l'acétate d'éthyle	Prétraitement chimique	Prétraitement avec une cellulase	Prétraitement avec une pectinase
Taux d'hydrosolubles (%)	33 ± 0,4	61,8 ± 1.4	56,9 ± 0,9
Erreur expérimentale (%) pour l'extraction	2,2	11	2,0

Mi : masse initiale de drêches sèches, **Map** : Masse sèche après prétraitement

Mp : masse de pectine, **Mae** : Masse sèche de solide résiduel (après extraction)

Mex : masse d'extrait pesé,

H% = $(M_i - M_{ae} - M_{ex}) / M_i \times 100$ représente le pourcentage massique de matière hydrosolubles présentes dans le filtrat, rapportée à la matière sèche initiale,

E% = $(M_{ap} - M_{ae} - M_{ex}) / M_{ap} \times 100$ représente l'erreur expérimentale liée à la seule étape d'extraction (suite au prétraitement)

3. Teneurs totales en polyphénols (TTP)

Les teneurs en flavonoïdes et en polyphénols ont été déterminées dans les extraits (**figures II-3 et II-4**). Les teneurs les plus élevées de deux composés ont été détectées dans les extraits obtenus avec de l'éthanol (99,5 mg ER/g et 99,8 mg EAG/g, respectivement) et avec un mélange éthanol:eau (93,2 mg ER/g et 93,0 mg EAG/g, respectivement), sans prétraitement. L'extrait préparé avec CO₂-SC est également riche en composés phénoliques (87,6 mg EAG/g), mais contient moins de flavonoïdes (seulement 33,6 mg ER/g). Pour les extraits obtenus avec l'acétate d'éthyle, les prétraitements enzymatiques ont été efficaces pour augmenter les teneurs

en polyphénols (jusqu'à 86,2 mg EAG/g) et en flavonoïdes (42,2 mg ER/g) comparés aux résultats obtenu avec l'acétate d'éthyle seul. Nour et al. [8] ont obtenu 1,2 mg EAG g d'extrait avec le mélange acétone: hexane (4:6), à température ambiante après 15 min, et 0,4 mg ER/g d'extrait avec du méthanol, sous sonication à température ambiante, après 50 min. La macération dans l'extrait éthanolique a permis d'extraire 3,09 mg EAG/g d'extrait et 3,08 mg ER/g d'extrait, montrant que l'éthanol semble être un solvant adéquat pour extraire ces deux catégories de métabolites.

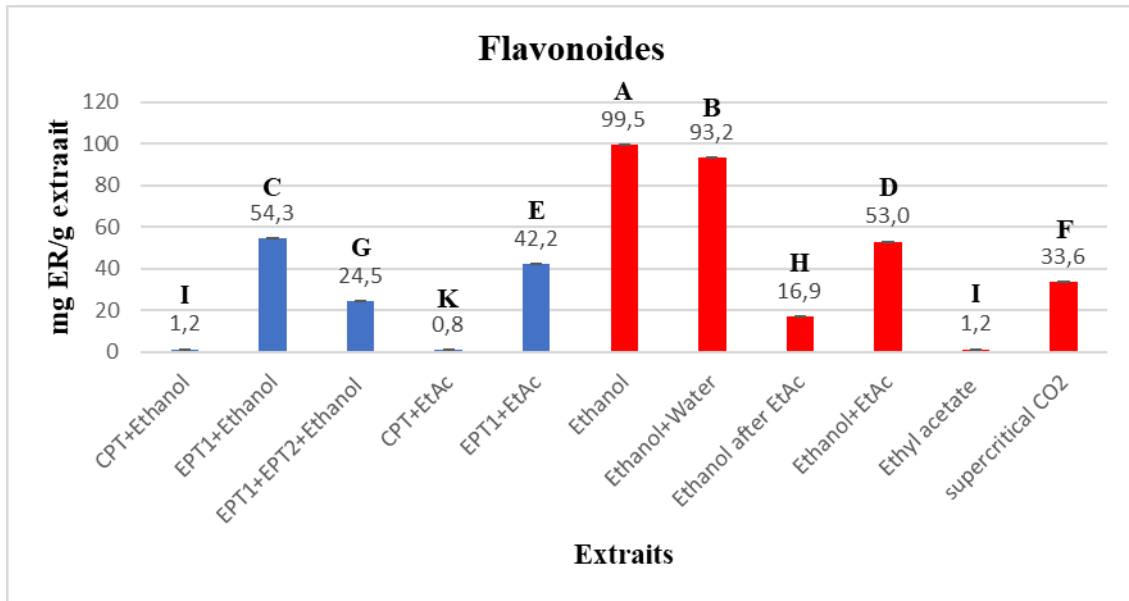


Figure II-3 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

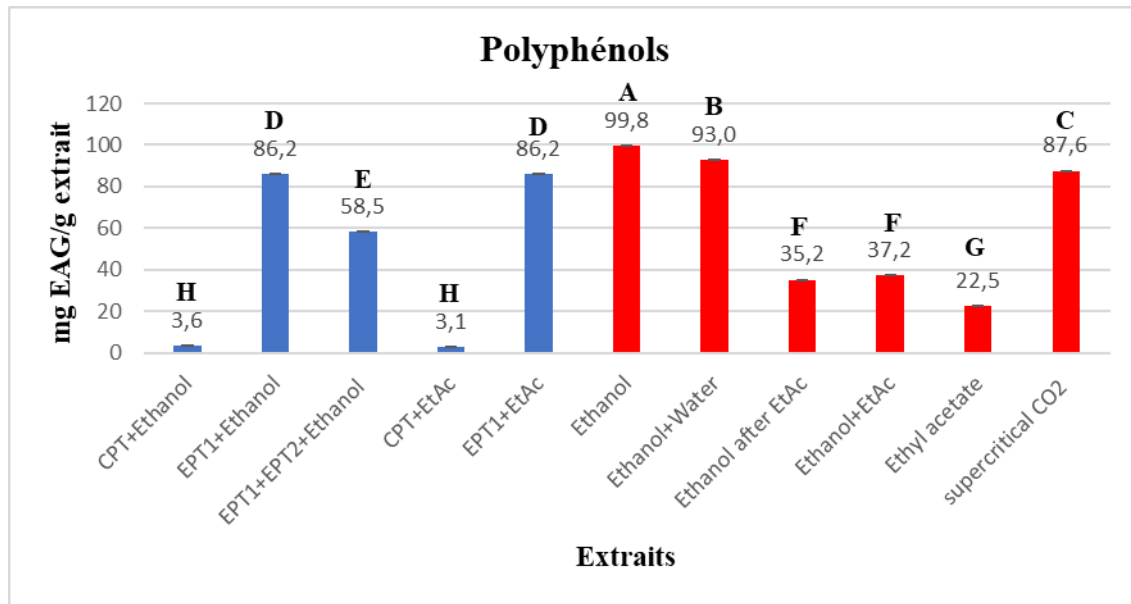


Figure II-4 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

4. Teneurs totales en caroténoïdes (TTC)

Les teneurs en caroténoïdes totaux déterminées par spectrophotométrie UV sont présentées sur la **figure II-7**. Les extraits préparés par macération dans l'acétate d'éthyle (après le prétraitement chimique) présentent les teneurs les plus élevées en caroténoïdes totaux dont le lycopène (60,1 mg/g d'extrait correspondant à 2,4 mg/g drêches de tomates MS) et β -carotène (128,2 mg/g d'extrait) (**figure II-6 et II-5**). Le rendement d'extraction en lycopène obtenu dans ces conditions est supérieur à celui (1,33 mg/g drêches MS) mentionné par [Silva et al. \[9\]](#) et [Szabo et al. \[10\]](#) lors de la mise en contact de drêches avec un mélange acétate d'éthyle: lactate d'éthyle activée par ultrasons (63°C, 100 ml/g). De plus, nous avons observé que le prétraitement enzymatique appliqué avant la macération à l'acétate d'éthyle était plus efficace pour libérer le lycopène (55,8 mg de lycopène/g d'extrait) par rapport au cas où il était couplé à la macération éthanolique (12,6 mg de lycopène/g d'extrait).

Les taux de lycopène (56 mg/g d'extrait) et de β -carotène (82 mg/g d'extrait) obtenus par CO₂-SC étaient supérieurs à ceux obtenus à des pressions plus élevées selon

Lenucci et al. [11]. Des extractions efficaces peuvent ainsi être réalisées à des débits et des pressions modérées, justifiant le choix de ce procédé pour le développement d'une bioraffinerie de drêches de tomates [12].

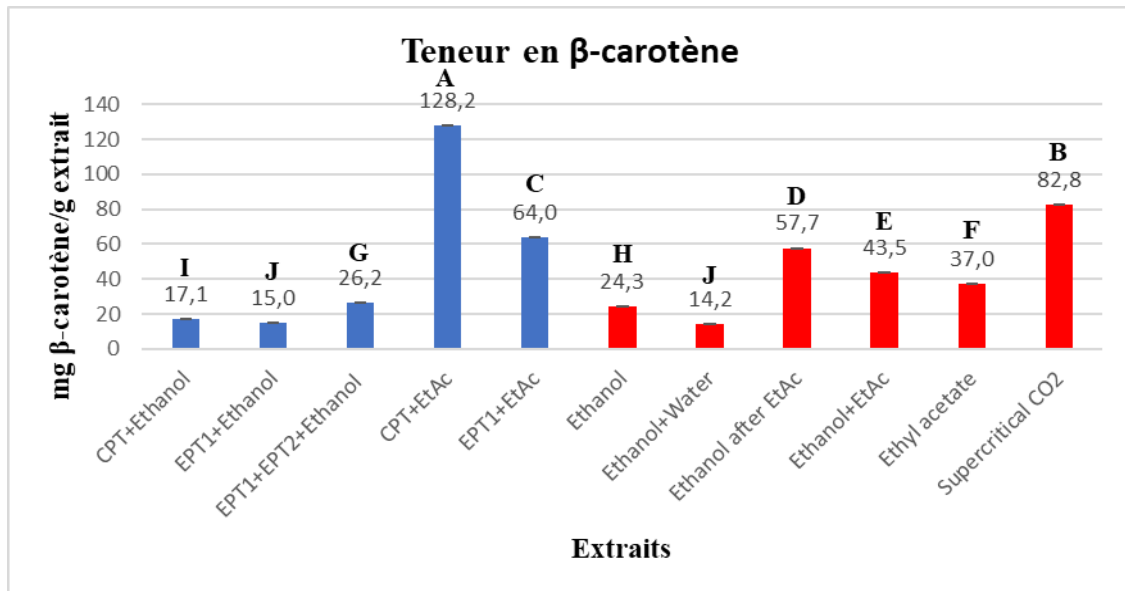


Figure II-5 : Teneur totale en β -carotène des extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

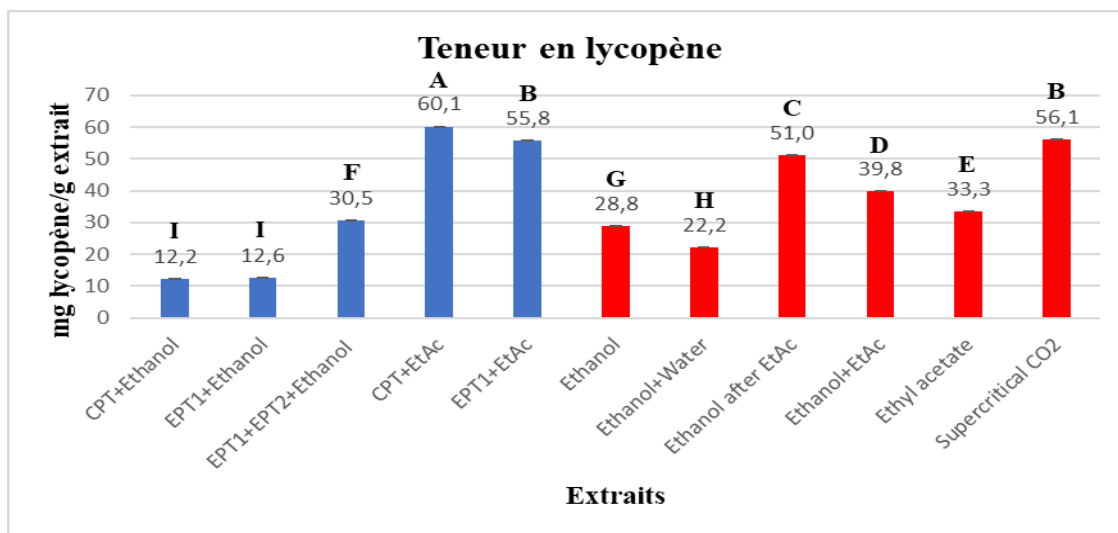


Figure II-6 : Teneur totale en lycopène des extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

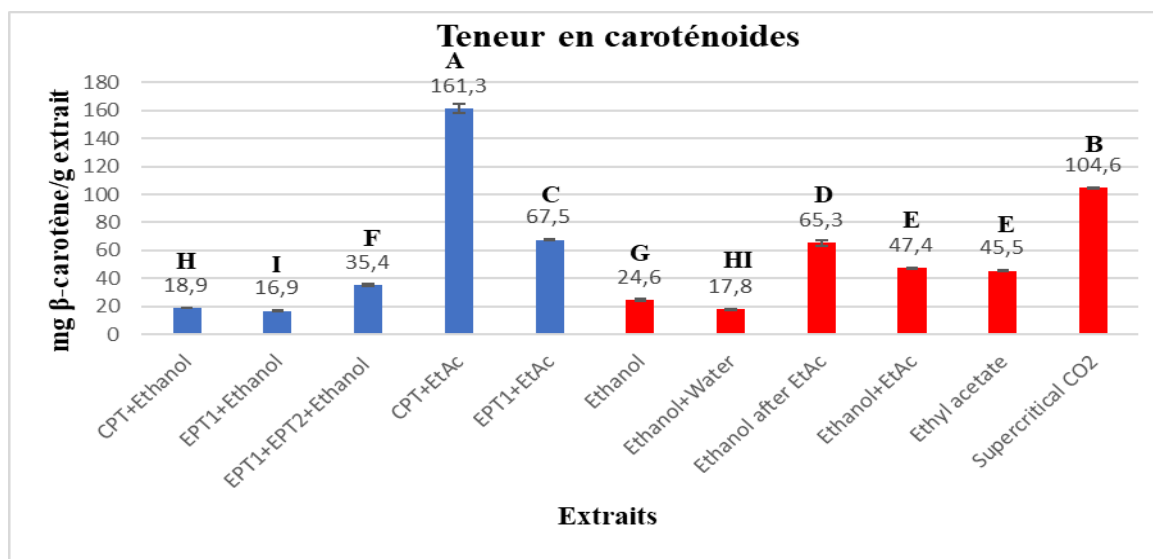


Figure II-7 : Teneurs en caroténoïdes totaux dans les extraits de drêches, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

5. Activité anti-radicalaire

L'activité anti-oxydante de chaque extrait a été exprimée en pourcentage d'inhibition dans la **figure II-8**. Les activités anti-oxydantes les plus élevées (69,7 et 71,6% d'inhibition) ont été détectées pour les extraits obtenus avec de l'éthanol : eau et éthanol (sans prétraitement), des échantillons qui correspondent aux teneurs les plus élevées en polyphénols et caroténoïdes. L'extrait préparé avec CO₂-SC a également montré des propriétés antioxydantes intéressantes qui peuvent être attribuées à sa teneur en polyphénols et en lycopène. [Lenucci et al. \[13\]](#) ont montré que la contribution de la fraction hydrophile (méthanolique) des tomates fraîches à l'activité antioxydante totale était nettement supérieure à celle des fractions lipophiles obtenues par l'hexane.

Des propriétés antioxydantes (environ 300 mg éq.Trolox/100 g de drêches) ont été également mesurées dans la fraction éthanolique de drêches, isolée après l'élimination des composés non polaires dans l'hexane [14]. [Cetkovic et al. \[15\]](#) ont expliqué l'activité antioxydante des extraits éthanoliques était due à un piégeage efficace des radicaux anioniques hydroxyle et superoxyde.

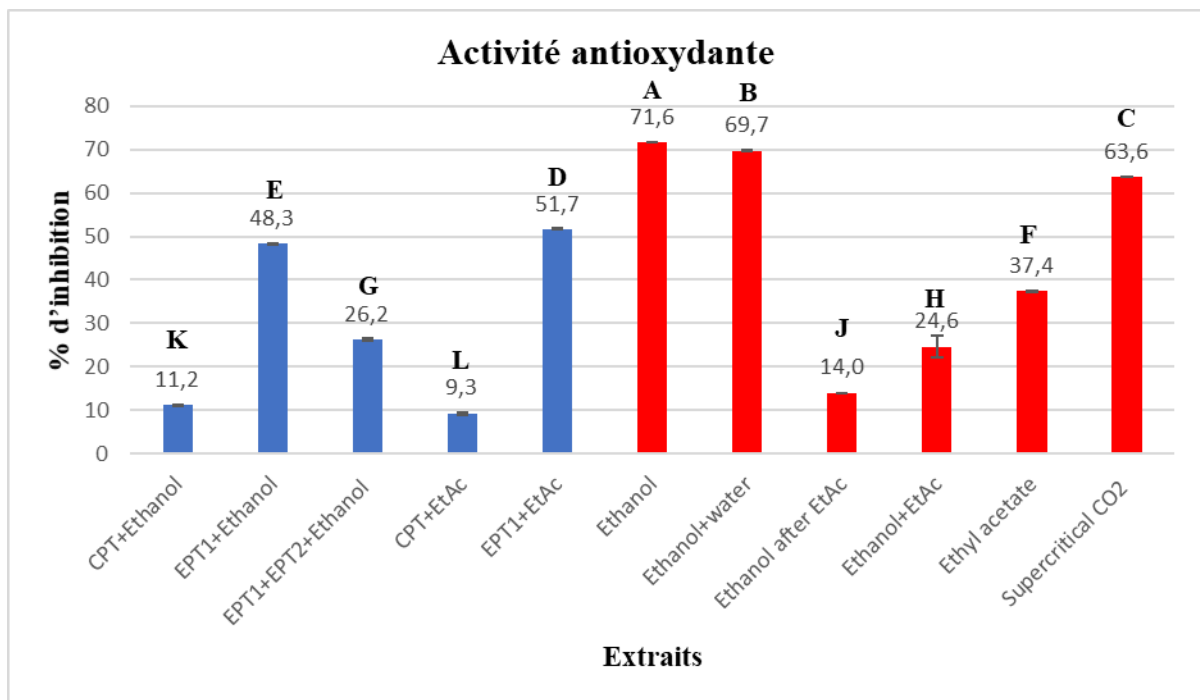


Figure II-8 : Activité anti-radicalaire DPPH des extraits de drêches testés à 1 mg/mL, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

6. Analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC-DAD)

Les analyses spectrophotométriques précédentes ont montré que les conditions d'extraction permettaient de conserver les molécules thermosensibles et d'obtenir des extraits ayant des teneurs variables en caroténoïdes, polyphénols et flavonoïdes. Les analyses ont montré que le prétraitement enzymatique augmentait la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de la fraction d'acétate d'éthyle, entraînant une augmentation de l'activité antioxydante. Une macération préliminaire dans l'acétate d'éthyle concentre la fraction éthanolique en caroténoïdes. L'extrait préparé par CO₂-SC est riche en lycopène, molécule qui contribue à son activité antioxydante.

Les analyses HPLC-DAD ont permis de préciser les compositions en différents métabolites (**tableau II-3**) (**Annexe 2**) et par exemple de détecter l'acide ascorbique comme substance antioxydante.

Selon le profil HPLC, l'extrait à l'acétate d'éthyle après un prétraitement chimique présente de la rutine hydrate, du kaempférol, des tanins et des dérivés de l'acide *p*-hydroxybenzoïque, avec des niveaux élevés en caroténoïdes. De plus, un prétraitement enzymatique (mélange de deux enzymes) a enrichi la fraction éthanolique en tanins, lycopène, isoquercétine et des acides phénoliques spécifiques (acide sinapique, acide férulique). L'extraction dans le mélange éthanol : acétate d'éthyle a entraîné des niveaux plus élevés de tanins et d'acides phénoliques dans l'extrait que ceux obtenus avec de l'éthanol seul. Les extraits éthanoliques (en mélange ou pas avec l'eau), ont des profils HPLC assez proches, même si la présence d'eau a diminué la teneur totale en caroténoïdes. Dans la fraction éthanolique obtenue après une macération dans l'acétate d'éthyle, ont été détectée la rutine hydrate et la trihydroxyéthylrutine, ainsi que la naringinine. Enfin, dans l'extrait obtenu avec CO₂-SC, ont été détectés des polyphénols (dont les acides phénoliques), des caroténoïdes (lycopène notamment) et de la trihydroxyéthylrutine (flavonoïde) et un tanin (ester de l'acide cinnamique).

7. Activités biologiques

Les activités biologiques des extraits ont été évaluées pour les échantillons ayant les teneurs les plus élevées en molécules bioactives, selon les résultats des teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux. Par conséquent, neuf extraits ont été étudiés et analysés par HPLC (**tableau II-3**).

7.1. Evaluation de l'activité antidiabétique

Dans cette partie, les enzymes α -glucosidase et α -amylase ont été utilisées pour évaluer l'activité antidiabétique. Ces enzymes sont des macromolécules appartenant à la classe des protéines globulaires, également considérées comme des glycoprotéines comportant de nombreux acides aminés. Les α -amylases hydrolysent les liaisons osidiques (1,4) de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et du glycogène et provoquent la libération du glucose, du maltose et surtout d' α -dextrines. Les α -glucosidases catalysent majoritairement l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glucosidiques d'un substrat pour libérer un α -D-glucose. L'acarbose est un médicament antidiabétique agissant comme inhibiteur de l' α -glucosidase. Il a été utilisé comme contrôle positif avec IC_{50} proche de 48 μ g/mL pour les deux enzymes. Les activités d'inhibition de l' α -glucosidase et l' α -amylase pour les différents extraits sont définies par des IC_{50} entre 8,7 et 15,1 μ g/mL (**figures II-9 et 10**). Cette activité élevée est probablement due à un effet de synergie entre les différentes molécules présentes dans les extraits.

L'extrait obtenu avec le mélange éthanol: eau (50:50) a les valeurs IC_{50} les plus basses (5,9 et 4,9 μ g/mL). Cet extrait contient des flavones (molécules 21, 25 et 26) et des acides phénoliques (molécules 1, 5 et 7), déjà connus pour avoir une activité antidiabétique. La contribution de la 5,7-dihydroxy-4-propyl coumarine (molécule 20) à plusieurs activités biologiques a été étudiée à partir d'extraits de moutarde Africaine [16]. Dans leur revue, [Khalid Al-Ishaq et al. \[17\]](#) ont décrit l'activité antidiabétique des flavonoïdes, y compris les flavones, ainsi que le mécanisme d'action correspondant. De plus, [Gheonea et al. \[18\]](#) ont également montré un effet inhibiteur (79,9%) contre la α -amylase pour le lycopène extrait des pelures de tomate à une concentration de 8,5 mg/mL.

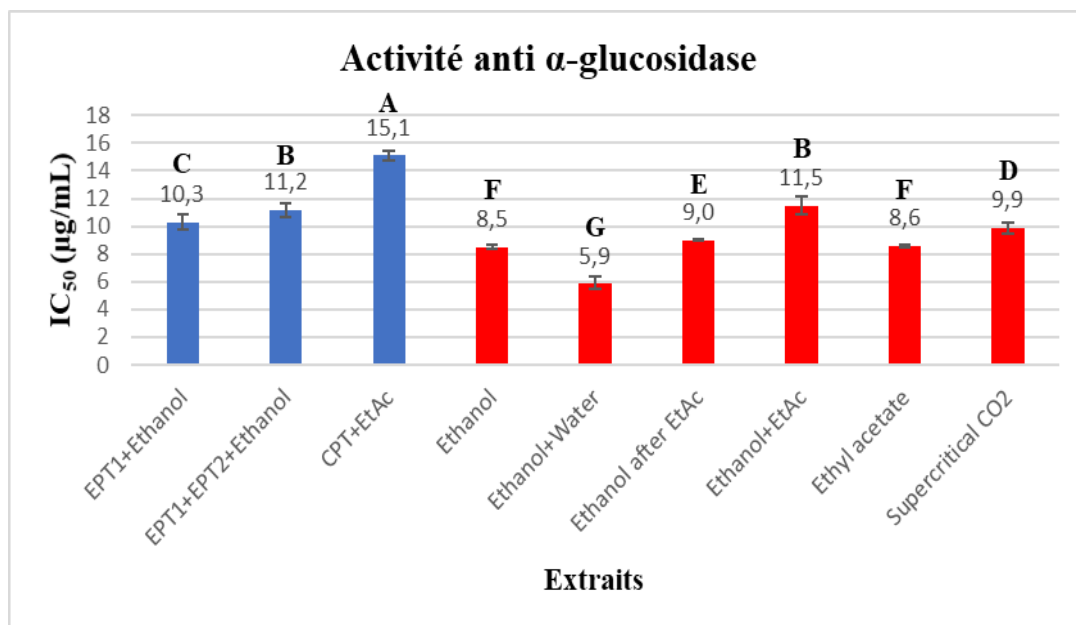


Figure II-9 : Activité anti α -glucosidase d'extraits de drêches testés à 250 µg/mL, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

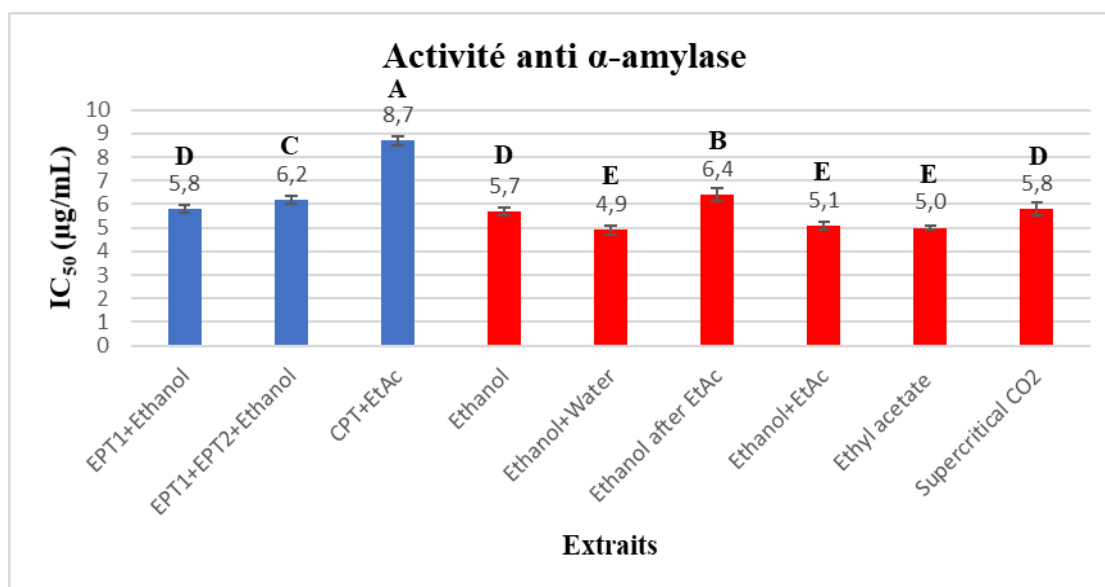


Figure II-10 : Activité anti α -amylase d'extraits de drêches testés à 250 µg/mL, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et à 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence

aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

7.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Les enzymes lipoxygénases jouent un important rôle dans les réponses oxydatives et inflammatoires. C'est une famille de protéines un atome de fer et catalysant la peroxydation des acides gras insaturés pour générer des métabolites lipidiques qui contribuent à la production de cytokines inflammatoires. Des médicaments sont développés pour inhiber l'action de ces enzymes et réduire certaines réactions inflammatoires.

Les tests d'inhibition de la 15-lipoxygénase (15-LOX) ont été réalisés avec de l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA) comme contrôle positif, montrant une IC_{50} de 4 $\mu\text{g/mL}$. Sur la **figure II-11**, les valeurs d' IC_{50} des extraits varient de 9,3 à 12,3 $\mu\text{g/mL}$, indiquant une activité contre la 15-lipoxygénase quel que soit le solvant utilisé pour l'extraction. L'extrait préparé avec de l'acétate d'éthyle après prétraitement chimique a l'une des valeurs les plus basses de IC_{50} (c'est-à-dire 9,3 $\mu\text{g/mL}$). Le kaempférol (molécule 23), le cinnamyl-3,4-dihydroxy- α -cyanocinnamate (molécule 24) et la rutine hydrate (molécule 14) sont susceptibles d'être impliquées dans l'activité détectée, car ces molécules ont déjà été rapportées comme ayant de propriétés anti-inflammatoires. Ainsi, les mécanismes d'action du kaempférol décrits par [Devi et al. \[19\]](#). [Pergola et al. \[20\]](#), ont démontré que la molécule 24 est un puissant inhibiteur de la 5-lipoxygénase avec une efficacité *in vivo*.

À partir de données récentes portant sur des études *in vitro*, [Maleki et al. \[21\]](#) ont souligné que les différentes sous-classes de flavonoïdes (dont la rutine hydrate, molécule 14) pourraient moduler plusieurs stades de l'inflammation, jouant ainsi un rôle clé dans des maladies telles que le diabète, l'asthme, les maladies cardiovasculaires et le cancer. Enfin, les acides phénoliques présents dans les extraits à base d'éthanol ont également été décrits comme de puissants inhibiteurs de la 15-lipoxygénase [[22](#), [23](#)].

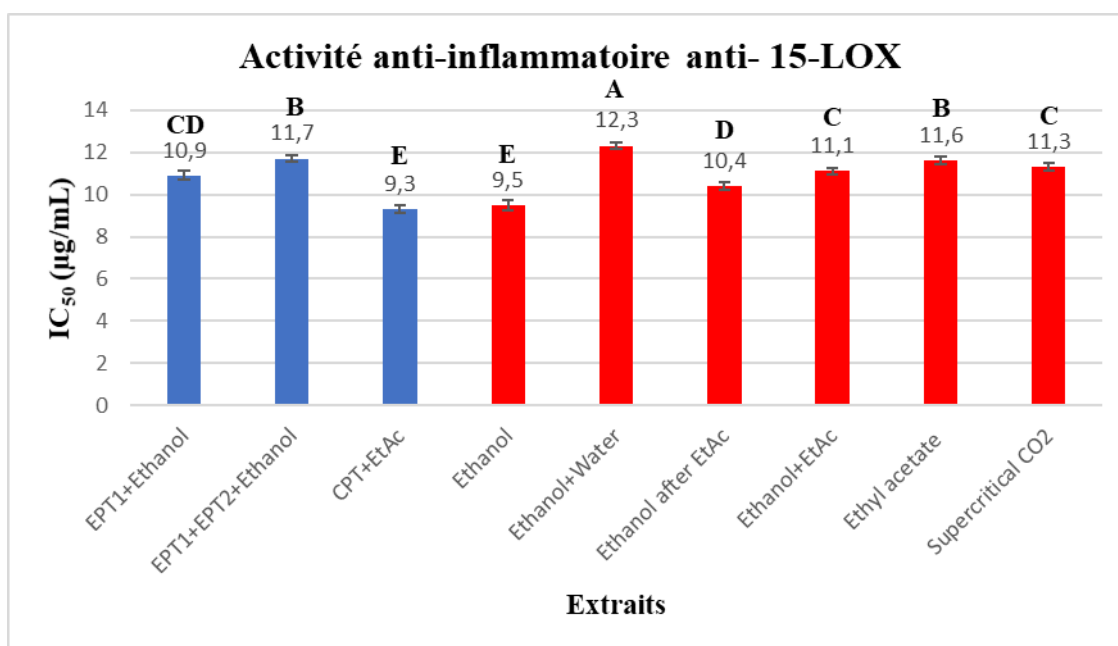


Figure II-11 : Activité anti-inflammatoire d'extraits de drêches sur l'enzyme 15-lipoxygénase, extraits testés à 250 µg/mL, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC, 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

7.3. Cytotoxicité vis-à-vis des lignées cellulaires tumorales (HCT-116)

La cytotoxicité des extraits (50 µg/mL) a été évaluée contre une variante des lignées cellulaires tumorales HCT-116 (**figure II-12**). Le tamoxifène (100 µM) utilisé comme témoin positif a montré 93% d'inhibition de la croissance cellulaire. Les résultats ont montré que l'extrait préparé avec CO₂-SC avait un important effet anticancéreux avec 64,5% d'inhibition. Quatre autres extraits impliquant l'éthanol comme solvant d'extraction ont un effet anticancéreux modéré avec des taux d'inhibition entre 31% et 37%. Ces quatre extraits avaient des teneurs élevées en polyphénols totaux (**figure II-4**), avec un niveau élevé d'acide chlorogénique (molécule 5) et plusieurs flavones en commun. Leurs activités peuvent être liées à plusieurs molécules signalé précédemment comme ayant de propriétés anticancéreuses. Ainsi, la trihydroxéthylrutine (molécule 17) s'est avérée être un agent inhibiteur efficace sur la lignée cellulaire HCT-116 [24]. L'acide chlorogénique, extrait des grains de café, a montré un effet cytotoxique en utilisant le test MTT, sur les cellules cancéreuses HCT-116 avec une valeur IC₅₀ de 0,84 mg/mL [25]. Dans une autre étude, le lycopène à une concentration de 100 µg/mL (molécule 29) a inhibé la croissance des cellules HCT-116 de 58,3 % [26]. De plus, la 5,6,7-

trihydroxyflavone (c'est-à-dire la baicaléine, molécule 21) extraite des fruits d'*Oroxylum indicum*, largement utilisée en phytothérapie traditionnelle Chinoise pour ses propriétés anti-inflammatoires, a inhibé la croissance des cellules HL 60 de 50 % à des concentrations de 25 à 30 mM [27]. Les flavones de peau de tomates ont également été signalées pour leur activité inhibitrice contre les cellules cancéreuses SCC 9 orales humaines [28, 29].

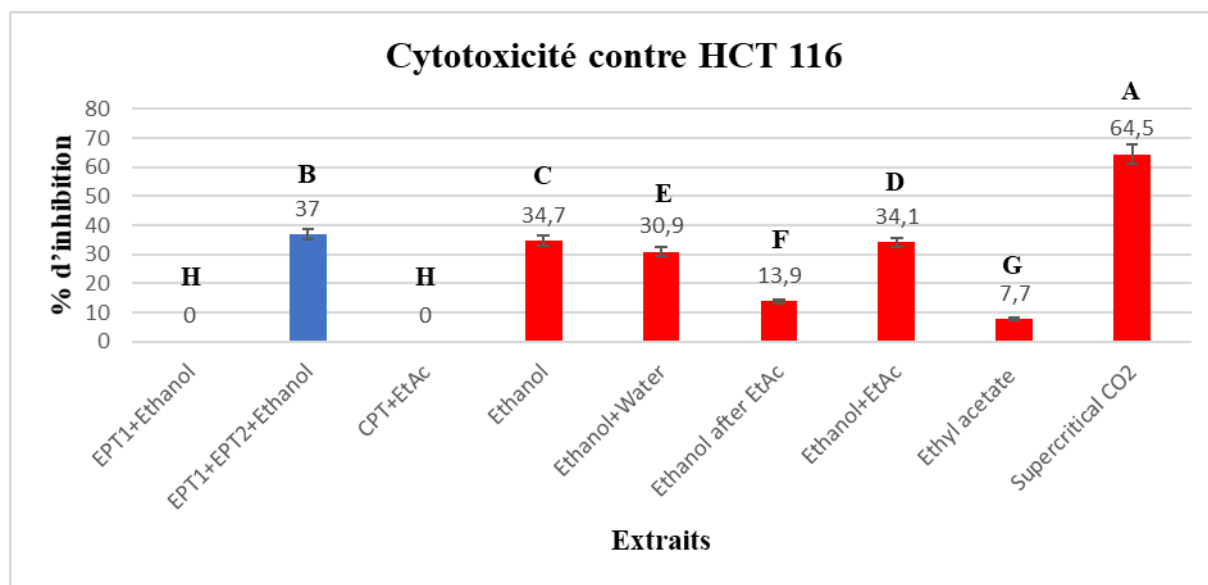


Figure II-12 : Activité cytotoxique d'extraits de drêches (testés à 50 µg/mL) contre les lignées cellulaires cancéreuses HCT 116, après macération à 20 °C pendant 24 heures ou avec CO₂-SC à 40 °C et 200 bars

EPT1 : prétraitement enzymatique à la cellulase ; EPT2 : prétraitement enzymatique à la pectinase, CPT : prétraitement chimique, EtAc : acétate d'éthyle ; les histogrammes de couleur bleue font référence aux extraits obtenus à partir des matières prétraitées. Les histogrammes de couleur rouge font référence aux extraits obtenus directement à partir de drêches sèches (c'est-à-dire sans prétraitement) ; les colonnes avec des lettres similaires indiquent des différences non significatives à $p < 0,05$.

7.4. Évaluation de l'activité antivirale *in vitro* contre le ZIKV

Le virus Zika (ZIKV) est un arbovirus de la famille des *Flavivirus* principalement transmis par les moustiques. La transmission par une transfusion sanguine contaminée est également possible. Il représente un problème important de santé publique car il peut infecter une grande variété de cellules humaines [30]. Les infections par le virus Zika peuvent être graves pour les patients dont le système immunitaire est affaibli, et pour les femmes enceintes (malformations congénitales possibles pour le fœtus).

Les activités antivirales potentielles des six extraits préparés (sans prétraitement de drêches) ont été étudiées contre le virus Zika (ZIKV). Pour ce test, les cellules humaines A549 ont été infectées par le ZIKV portant un gène rapporteur qui code pour la protéine fluorescente GFP

[31] pendant 24h, en présence de différentes concentrations non toxiques d'extraits. Les concentrations inhibant 50% l'infection ont été déterminées. Les résultats des tests d'activité antivirale sont présentés dans la **figure II-13**.

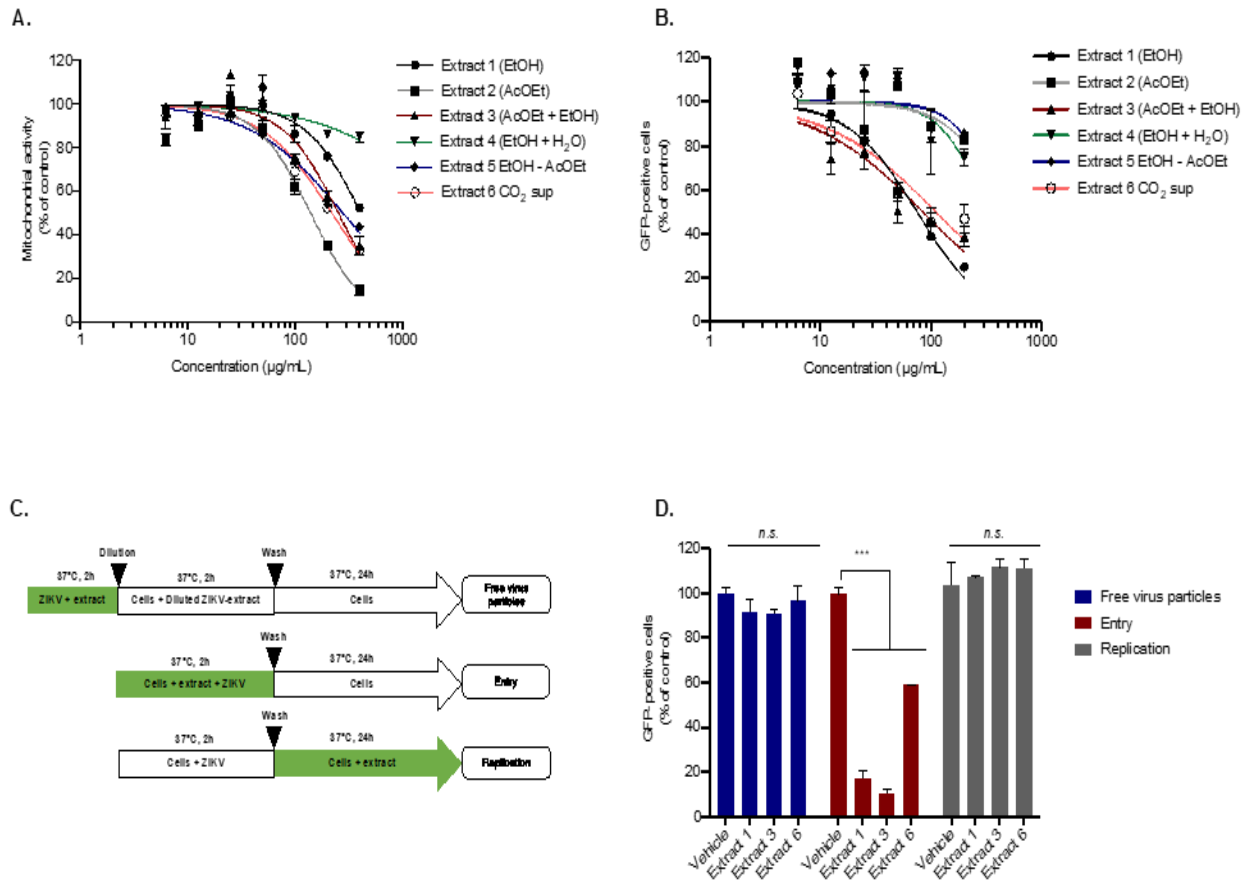


Figure II-13 : Activité antivirale des extraits contre le ZIKV

(A) Les cellules A549 ont été incubées avec des dilutions en série doubles (400 à 6,25 µg/mL) d'extrait de plante pendant 24 h. L'activité mitochondriale cellulaire a été évaluée à l'aide d'un test MTT. (B) Les cellules A549 ont été infectées avec ZIKV^{GFP} (MI = 1) en présence de différentes concentrations d'extraits. L'analyse par cytométrie de flux (fluorescence GFP) a été réalisée 24 heures après l'infection. (C) Représentation schématique du test de temps d'ajout de médicament utilisé pour caractériser l'activité antivirale des extraits 1, 3 et 6 (100 µg/mL). (D) Analyse par cytométrie de flux pour l'expression de GFP dans des cellules A549 infectées par ZIKV^{GFP} pendant 24 heures (MI = 1) dans les différentes conditions expérimentales indiquées en (C). Les données représentent les moyennes (avec écart type) de quatre expériences indépendantes réalisées en triple exemplaire et sont exprimées en valeurs relatives aux cellules infectées non traitées. L'analyse statistique consistait en une analyse ANOVA suivie du test de Dunnett avec une signification de $p < 0,05$.

Les résultats ont montré que les activités mitochondriales cellulaires étaient préservées en dessous de 20 µg/mL (**figure II-13A**). Au-delà de cette concentration, la viabilité cellulaire est préservée pour les extraits 1 (éthanol) et 4 (éthanol : eau) avec des valeurs de 80-90 % à 200

$\mu\text{g/mL}$, par rapport aux cellules témoins infectées non traitées. Le test d'activité antivirale a indiqué que les extraits 1, 3 et 6 (préparés avec l'éthanol, le mélange éthanol : acétate d'éthyle et $\text{CO}_2\text{-SC}$, respectivement) inhibaient l'infection par le ZIKV pour des concentrations supérieures à $10 \mu\text{g/mL}$ (**figure II-13B**). Pour une concentration de $200 \mu\text{g/mL}$ ces trois extraits inhibent l'infection ZIKV dans les cellules humaines jusqu'à 75%. La cinétique de traitement par les extraits pendant le cycle viral (**figure II-13C**) a montré que les extraits les plus actifs (1, 3 et 6) agissaient sur l'entrée du ZIKV dans les cellules (**figure II-13D**). Gaafar et al. [32] ont montré qu'un extrait éthanolique de drêches de tomate ($400 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) avait une inhibition de 63% contre *Influenza aviaire* A H5N1. L'épicatéchine (molécule 6) détectée dans les extraits 1 et 3 a déjà été décrite par Behl et al. [33] pour son activité antivirale contre le virus Zika. La baicaline (trihydroxyflavone) également détectée dans des extraits à base d'éthanol a été signalée comme étant capable de diminuer la réplication du ZIKV [33,34]. L'isoquercitrine (quercétine-3-O-glucoside, molécule 16) détectée dans les extraits 1, 2 et 3 a été identifiée comme un puissant inhibiteur du ZIKV dans différents types de cellules humaines, car cette molécule empêche l'initiation de l'infection dans la cellule hôte [35]. Certains flavonoïdes ont été signalés pour leurs activités anti-virus Zika [30, 36]. Enfin, l'hamamétanin (molécule 4 dans les extraits 2 et 3) a été décrite comme un inhibiteur potentiel du SRAS-CoV-2, sur la base des données d'amarrage moléculaire [37]. Ces différentes classes de molécules permettent d'expliquer les activités antivirales de certains extraits de drêches contre le ZIKV. Les molécules agissent probablement en synergie, puisque la fraction éthanolique de l'extrait 5 (concentration en molécules polaires) a montré des bioactivités plus faibles.

8. Conclusion

Des macérations de drêches dans les solvants verts sélectionnés et des extractions en conditions $\text{CO}_2\text{-SC}$ ont conduit à isoler des fractions contenant un cocktail de molécules conservées. Sur la base de l'analyse HPLC, 30 molécules ont été identifiées dans les différents extraits, parmi lesquelles les hydroxy/méthoxy flavones, les acides phénoliques, les caroténoïdes et les tanins comme groupe de molécules les plus abondantes. Nos analyses ont confirmé que le choix de solvant et de prétraitement détermine la sélectivité du processus d'extraction. Les teneurs totales en polyphénols et flavonoïdes montrent une contribution significative aux propriétés anti-oxydantes des fractions avec une inhibition supérieure à 48%. L'intérêt d'un prétraitement dépend du solvant d'extraction et des propriétés visées. Pour l'extraction dans l'acétate d'éthyle, le prétraitement chimique de drêches améliorait l'**activité anti-inflammatoire** avec une $\text{IC}_{50} = 9,3 \mu\text{g/mL}$, montrant le rôle des caroténoïdes dans la régulation des processus inflammatoires.

Pour le même extrait, le prétraitement enzymatique augmentait son **activité antioxydante** de 37 à 51% d'inhibition. Pour l'extrait éthanolique, le prétraitement enzymatique tend à améliorer **l'activité cytotoxique** contre les lignées cellulaires HCT-116 (37% au lieu de 34,7% d'inhibition). Mais, le plus haut niveau de cytotoxicité a été obtenu avec l'extrait CO₂-SC avec 65% d'inhibition. En ce qui concerne le **potentiel antidiabétique**, l'extrait préparé avec le mélange éthanol : eau a été capable d'inhiber les activités de **α -amylase et α -glucosidase** avec des valeurs IC₅₀ de 4,9 et 5,9 μ g/mL, respectivement. A des concentration non-toxiques, la fraction éthanolique des extraits de drêches a montré une activité anti-virale élevée contre le ZIKV avec une IC₅₀=75 μ g/mL. Ces fractions agissaient sur le stade précoce du cycle viral en inhibant son entrée dans les cellules hôtes. De plus, les conditions favorisant une extraction plus sélective (extraction dans l'éthanol après élimination des molécules lipophiles dans l'acétate d'éthyle) n'ont conduit qu'à des propriétés biologiques modérées. Ce résultat suggère qu'il peut y avoir une synergie entre certaines molécules polaires et non polaires. Enfin, les associations de métabolites obtenues dans des conditions douces à partir de drêches de tomates ont montré leurs bénéfiques potentiels sur la santé humaine. Ces extraits pourraient être utilisées sans fractionnement supplémentaire, pour des formulations pharmaceutiques, nutraceutiques ou cosmétiques. En se basant sur ces résultats, nous espérons déterminer le rôle de la matrice (lipides ou polysaccharides) dans la conservation des molécules. L'utilisation d'un prétraitement pourrait être intéressante pour les extractions de drêches de tomates fraîches.

9. Partie expérimentale

9.1. Préparation et prétraitement de drêches de tomates

Les drêches de tomates fraîches ont été fournies par la coopérative « Les Jus du Soleil » (Marmande, France). Elles ont été séchées au four à 50°C pendant 8 heures pour obtenir de drêches de tomates sèches. L'humidité résiduelle de la matière première après séchage était de 2%. Avant extraction, les drêches ont été broyées avec un broyeur électrique pour obtenir des particules entre 1 et 2 mm (mesuré par microscopie optique, grossissement \times 10). Ces particules ont été séchées à l'étuve à 40°C pendant 8 heures, avant leur utilisation. Certains échantillons de drêches ont été prétraités avant de les mettre en contact avec un solvant. Ces conditions visent à hydrolyser les polyesters et les polysaccharides pour parvenir à une libération plus aisée des métabolites lors de l'extraction.

Pour le **prétraitement chimique** nous utilisons la solution oxydante telle que décrite par [Grassino et al.](#) [6]. 16 g de drêches ont été ajoutés à un mélange de 100 mL d'oxalate d'ammonium (16 g/L) et 100 mL d'acide oxalique (4 g/L), et agités à 90°C pendant 7 heures.

Le matériel a été filtré sur Büchner. Le filtrat peut être conservé pour une extraction ultérieure des pectines. Le résidu solide a été séché au four à 30°C pendant 8 heures avant extraction.

Le **prétraitement par une catalyse enzymatique** a été adapté de Choudhari et al. [38]. 20 mL de solution tampon (0,2 mol/L) à pH 4,5 ont été préparés à partir de 0,18 g d'acide acétique et 0,164 g d'acétate de sodium, suivi d'une agitation pendant 3 minutes. 5 mg d'enzyme (5 mg de cellulase ou 5 mg d'un mélange 50 :50 de pectinase et de cellulase) ont été solubilisés dans 1 mL de solution tampon sous agitation 2 min. Le mélange a été ajouté à 3 g de drêches de tomates séchées. Le milieu traité avec la cellulase a été incubé à 55°C (65°C pour la pectinase) pendant 15 minutes. Le matériel solide a été filtré, lavé sur Büchner et séché pendant 8 heures à 40°C.



Figure II-14 : Drêches de tomates brutes, avant et après broyage (1 à 2 mm)

9.2. Méthodes d'extraction

9.2.1. Extraction par macération à froid

Les drêches (prétraitées ou non par voie chimique) ont été mises dans 100 mL de solvant (acétate d'éthyle, éthanol, leur combinaison 1:1 ou un mélange éthanol-eau 1:1) sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Après filtration du matériau solide, le solvant est évaporé sous pression réduite.

Les drêches prétraitées par voie enzymatique ont été mises dans 30 mL de solvant (acétate d'éthyle ou éthanol) sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Après filtration de la matière solide, le solvant est évaporé sous pression réduite.

Exprimés en % massique de matière sèche, les rendements d'extraction ont été calculés selon la formule suivante :

Rendement de l'extraction (%)

$$= 100 \times \frac{\text{masse initiale de drêche} - \text{masse de drêche après extraction}}{\text{masse solide de drêches de tomates}} \quad (1)$$

9.2.2. Extraction par CO₂-SC

Les extractions ont été effectuées dans une unité à fluide supercritique conformément à la directive 97/23/EC, composée d'un récipient d'extraction de 0,22 L, d'un séparateur de 0,22 L, d'une pompe pneumatique et de deux bains thermostatiques à 40°C comme présenté dans la **figure II-15**. Pour chaque expérience, 15 g de drêches de tomates broyées (particules de 2-3 mm) ont été chargées dans l'extracteur. Le débit de CO₂ a été réglé à 80 g/min sous 200 bars. L'extraction est stoppée lorsque le poids collecté du séparateur est stable.

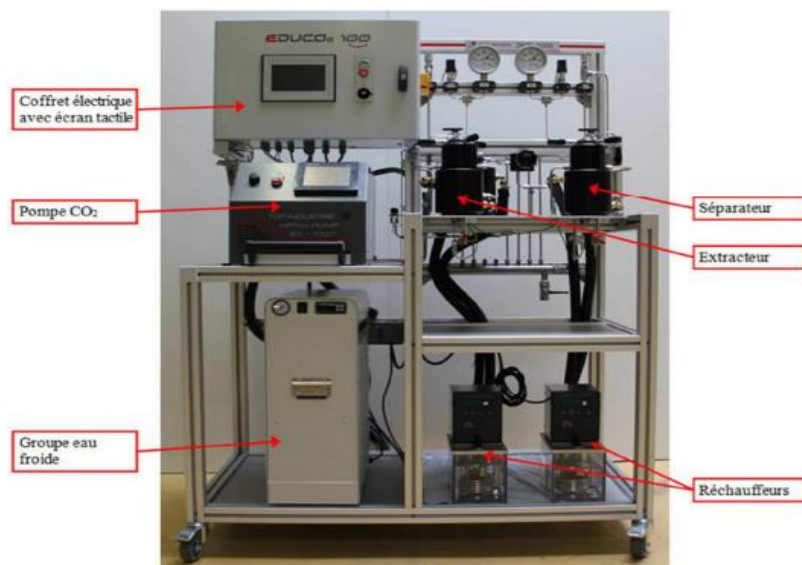


Figure II-15 : Exemple d'installation alimentée par du CO₂ supercritique

9.3. Détermination de la composition des extraits

9.3.1. Teneur totale en polyphénols (TTP)

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée par le réactif de Folin-Ciocalteu selon Papoutsis et al. [39] avec quelques modifications. Dans un tube de 6 mL, ont été placés 1 mL d'extrait (1 mg/mL d'éthanol), suivi de 0,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu à 10% (p/v). Après une agitation douce (5 min), 1,5 mL d'une solution de carbonate de sodium (2%) a été ajouté. Le mélange a été agité manuellement et incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. La réaction a été stoppée en plongeant les tubes dans un bain froid pendant 20 minutes. Un blanc a été préparé de manière similaire en remplaçant la solution d'extrait par l'éthanol. L'absorbance a été mesurée à 760 nm avec un spectrophotomètre UVD 1800 (Shimadzu). L'acide gallique a été utilisé comme étalon pour la préparation d'une courbe d'étalonnage avec des concentrations comprises entre 0,01 et 0,20 g/L. Les différentes solutions d'acide gallique ont été mélangées avec le réactif de Folin-Ciocalteu avec le même protocole

décrit pour les aliquotes d'extraits. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

9.3.2. Teneur totale en flavonoïdes (TTF)

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée selon la méthode au chlorure d'aluminium selon [Quettier-Deleu et al. \[40\]](#) avec quelques modifications. 1 mL d'extrait dilué (1 mg/mL d'éthanol) ou 1 mL d'une solution standard de rutine a été mis dans un flacon. 1 mL d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium (2%) a été ajouté et mélangé avant une incubation à l'obscurité pendant 1 heure à température ambiante. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UVD 1800 (Shimadzu). 1 ml de solvant (éthanol) avec 1 ml de la solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2% ont été utilisés comme blanc avant de lire les échantillons. Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant la rutine comme étalon avec des concentrations comprises entre 0,005 et 0,090 g/L. Des aliquotes de solutions de rutine ont été mises en contact avec la solution de chlorure d'aluminium, avec le même protocole. La concentration en flavonoïdes est exprimée en milligrammes d'équivalents rutine (ER) par gramme d'extrait (mg ER/g d'extrait).

9.3.3. Teneur totale en caroténoïdes (TTC)

Un spectrophotomètre UV 1800 (Shimadzu) a été utilisé pour estimer la teneur totale en caroténoïdes à 446 nm dans une cellule en quartz avec une longueur de trajet de 1 cm. L'absorption de la solution a été mesurée à 471 nm pour le dosage du lycopène et à 400 nm pour celui du β -carotène. 0,1 g d'extrait séché a été dissous dans 50 ml d'éthanol avant ultrasons pendant 1 min. Deux courbes d'étalonnage ont été définies à partir des absorbances mesurées à 400 et 471 nm pour les solutions préparées avec des concentrations comprises entre 0,027 et 0,150 g/mL de β -carotène et lycopène dans l'éthanol. Par ailleurs, les teneurs en caroténoïdes totaux ont été mesurées à 446 nm et exprimées en mg d'équivalents β -carotène par gramme d'extrait.

9.4. Détermination de l'activité biologique des extraits

9.4.1. Activité antioxydante déterminée par DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée en déterminant leur activité de piégeage des radicaux libres avec le radical 2,2-diphényl-1-picryldrazyl (DPPH) selon [Brand-Williams \[41\]](#). 5 mg de DPPH ont été dissous dans 100 mL d'éthanol pour obtenir une absorbance de DPPH à 516 nm comprise entre 0,9 et 1,1. Les extraits ont été dilués dans de l'éthanol pour obtenir 500 ug/ml.

Une aliquote de 150 µl de chaque extrait et 150 µl de solution éthanolique de DPPH (50 µg/ml) ont été ajoutés aux puits d'une microplaque à 96 puits. La plaque a été maintenue à l'obscurité pendant 40 min, avec un mélange par rotation douce toutes les 5 min. L'absorbance a été lue à 516 nm avec un spectrophotomètre (spectrostar, BMG Labtech). Le pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times \left(1 - \frac{A}{A_0}\right) \quad (2)$$

où A est l'absorption en présence de l'extrait, et A₀ l'absorption de la solution éthanolique préparée en mélangeant 150 µL de solution DPPH et 150 µL d'éthanol.

9.4.2. Activités antidiabétiques

La capacité à inhiber l' α -glucosidase des extraits a été estimée selon Oueslati et al. [42], avec quelques modifications. Le substrat p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (PNPG) a été utilisé pour cette expérience. Le diméthylsulfoxyde (DMSO) a été utilisé pour préparer les différentes concentrations des extraits. En bref, 50 µL des extraits testés (250 µg/mL de DMSO) ont été mélangés avec 100 µL de la solution enzymatique [1 U/mL α -glucosidase dans un tampon phosphate (pH 6,9)] et 50 µL de tampon phosphate (0,1 M, pH = 6,9). Après une pré-incubation de 10 minutes à 25 °C, 50 µL de solution de PNPG (5 mM) préparée dans du tampon phosphate (pH = 6,9) ont été ajoutés au mélange (1% DMSO) puis incubés pendant 5 min à 25°C. L'absorbance a été mesurée à 405 nm par le spectrophotomètre pour microplaques Thermo Scientific Multiskan™ GO à l'aide d'une microplaque à 96 puits. La mesure a été répétée 3 fois. L'acarbose, un inhibiteur de l' α -glucosidase, a été utilisé comme contrôle positif. Le pourcentage d'inhibition (%) reflète l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase et a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Activité inhibitrice de l}'\alpha - \text{glucosidase (\%)} = 100 \times \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \quad (3)$$

où A_{contrôle} est l'absorbance (405 nm) du contrôle préparé avec 100 µL de solution tampon de phosphate de potassium (pour remplacer l' α -glucosidase) et A_{échantillon} est l'absorbance (405 nm) en présence de l'extrait.

L'activité inhibitrice a été exprimée en termes d'IC₅₀ (µg/mL), qui correspond à la concentration requise pour inhiber l'hydrolyse enzymatique (par l' α -glucosidase) du substrat p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside de 50 %.

L'activité d'**inhibition de l' α -amylase** par les extraits a été estimée par la méthode DNS selon [Saidi et al. \[43\]](#), avec quelques modifications. Chaque extrait a été dissous dans le minimum de DMSO puis dilué dans du tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6,9). Le niveau de DMSO ne dépasse pas 1% dans le mélange. 50 μ L d'un extrait dilué (250 μ g/mL) ont été ajoutés à 50 μ L de solution d' α -amylase (3 mg/5 mL dissous dans le même milieu tampon. Après une pré-incubation de 15 min à 25°C, 100 μ L de la solution d'amidon (1% dans une solution tampon) a été ajoutée au mélange. Après incubation à 25°C pendant 3 min, la réaction a été mélangée avec 100 μ L de solution d'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS). Le tube de réaction a été mis dans un bain d'eau bouillante pendant 10 min, puis a été refroidi à température ambiante, avant d'ajouter 1 mL de tampon phosphate de sodium L'absorbance a été mesurée à 540 nm par spectrophotomètre pour microplaques Thermo Scientific MultiskanTM GO en utilisant une microplaque de 96 puits (triple). Acarbose (1,3 mg/mL), un inhibiteur de l' α -amylase, a été utilisé comme contrôle positif. Le pourcentage d'inhibition (%) de l' α -amylase a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Activité inhibitrice de l}'\alpha - \text{amylas (\%)} = 100 \times \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \quad (4)$$

où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance (540 nm) du contrôle préparé avec 100 μ L de tampon phosphate de potassium au lieu de la solution d' α -amylase, $A_{\text{échantillon}}$ est l'absorbance (540 nm) en présence de l'extrait isolé. La concentration du composé (IC_{50} en μ g/mL) fournissant 50 % d'inhibition a été calculée en traçant les pourcentages d'inhibition par rapport aux concentrations de l'échantillon.

9.4.3. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits a été déterminée à l'aide de l'enzyme 15-lipoxygénase (15-LOX) de soja, comme décrit par [Khelifi et al. \[24\]](#), avec quelques modifications. 20 μ L d'extrait (250 μ g/mL) ont été mélangés avec 150 μ L de tampon phosphate de sodium (pH = 7,4), 20 μ L de 15-lipoxygénase et 60 μ L d'acide linoléique (3,5 mM) comme substrat. Pour le blanc, le substrat a été remplacé par 60 μ L de solution tampon. Ensuite, le mélange a été incubé à 25°C pendant 10 minutes et l'absorbance a été déterminée à 234 nm par spectrophotomètre pour microplaques Thermo Scientific MultiskanTM GO à l'aide d'une microplaque à 96 puits. Les mesures ont été répétées 3 fois. L'acide nordihydroguaiarétique (NDGA) à 0,5 mg/mL a été utilisé comme témoin positif. L'équation suivante permet de calculer le pourcentage d'inhibition de l'activité enzymatique :

$$\% (I) = 100 \times \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \quad (5)$$

où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance (234 nm) de la réaction lorsque l'extrait est remplacé par un tampon phosphate de potassium et $A_{\text{échantillon}}$ est l'absorbance (234 nm) en présence de l'extrait isolé.

9.4.4. Essai de viabilité cellulaire HCT-116

Ce test est basé sur la réduction du MTT (un sel de tétrazolium jaune soluble dans l'eau) par la déshydrogénase mitochondriale des cellules intactes en formazan violet. L'activité anti-prolifératrice des extraits sur les cellules HCT-116 (lignée cellulaire de cancer du côlon humain) a été estimée comme décrit par [Dawra et al. \[44\]](#), avec quelques modifications. Les cellules achetées auprès de l'ATCC ont été cultivées à 37°C dans un incubateur humidifié à 5% de CO₂ (NBS Eppendorf, Germany) en utilisant du milieu RPMI 1640. Les cellules HCT-116 ont été distribuées dans une microplaque de 96 puits à raison de 3×10^4 cellules/puits dans 100 µL du milieu de culture approprié, suivies d'une incubation de 24h à 37°C. Les composés testés ont été mis en suspension dans du DMSO puis dilués pour obtenir des concentrations de DMSO inférieures à 1%. La microplaque a été incubée à 37°C pendant 48 heures. Le surnageant a ensuite été éliminé et 20 µL de la solution de MTT ont été ajoutés suivis d'une incubation de 40 minutes. Après avoir retiré le réactif MTT, 80 µL de DMSO ont été ajoutés pour solubiliser les cristaux de formazan. Enfin, l'absorbance a été mesurée à 605 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Multiskan™ GO, F1-01620, Thermo Fisher Scientific) et les mesures ont été répliquées 3 fois. Le tamoxifène à 100 µM a été utilisé comme témoin positif. Le pourcentage d'inhibition de l'activité des cellules a été calculé comme suit :

$$\% (I) = 100 \times \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}} \quad (6)$$

A_{blanc} correspond à l'absorbance de la suspension cellulaire en absence de l'extrait.

9.4.5. Mesures par cytométrie de flux

Pour la cytométrie de flux, les cellules A549 ont été cultivées dans des plaques à 96 puits et infectées avec du ZIKV^{GFP}, en présence ou en absence d'extraits, pendant 24h à une multiplicité d'infection (MI) de 1. Les cellules ont ensuite été traitées avec de la trypsine et fixées par incubation avec 3,7% de paraformaldéhyde pendant 15 min. Les cellules ont été ensuite soumises à une analyse de cytométrie de flux à l'aide du cytoflex (Beckman). Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel cytexpert.

9.5. Analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC-DAD)

Les analyses HPLC ont été réalisées avec une pompe Thermo Fisher Scientific Spectra System P1000XR équipée d'un Diode Array Detector (Waters 996). Les séparations ont été réalisées sur une colonne en phase inverse RPC18 (Phenomenex, Le Pecq, France) de 25 cm × 4,6 mm avec une granulométrie de 5 µm. L'éluion a été réalisée à un débit de 1,2 mL/min, en utilisant une phase mobile constituée d'eau acidifiée à pH 2,6 (solvant A), et d'eau acidifiée : acétonitrile (20 : 80 v/v) (solvant B). Les échantillons ont été élués par le gradient linéaire suivant : de 12 % B à 30 % B pendant 35 minutes, de 30% B à 50% B pendant 5 minutes, de 50% B à 88% B pendant 5 minutes et enfin de 88% B à 12% B pendant 15 minutes. Les extraits ont été préparés à une concentration de 1 mg/mL dans de l'acétonitrile et filtrés avec un filtre seringue Millex-HA (0,45 µm) (Sigma Aldrich). 20 µL de chaque échantillon ont été injectés et la détection a été enregistrée à 280 nm. Les composés ont été identifiés grâce à leurs temps de rétention (TR) et leurs caractéristiques spectrales par rapport aux standards.

9.6. Analyse statistique

Les données ont été exprimées en valeurs moyennes ± écarts-types. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivie du Duncan's test à plages multiples pour comparer les moyennes montrant une variation significative ($p < 0,05$).

Des tests statistiques pour les activités antivirales ont été effectués à l'aide du logiciel Prism (version 9.0; GraphPad software, La Jolla, CA, USA).

Tableau II-3 : Identification de molécules dans les extraits de drêches par HPLC-DAD (dilution à 1 mg/mL)

N°	TR (min)	Composés	Avec prétraitement (en UA)			Sans prétraitement (en UA)					
			EPT1 + éthanol	EPT1 + EPT2 + éthanol	CPT + AcEt	Ethanol	Ethanol + eau	Ethanol après AcEt	Ethanol + AcEt	Ac Et	CO ₂ -SC
1	2.2	acide 3-amino-4-hydroxybenzoïque	2.6	9.5	-	2.8	-	12.3	18.7	1.9	-
2	2.81	acide ascorbique	-	15.6	0.2	13.3	26.0	14.6	45.8	6.2	-
3	4.1	acide gallique	-	-	0.1	-	'	-	7.9		
4	7.66	hamamelitanin	-	-	-	-	-	0.6	4.4	-	-
5	9.88	acide chlorogénique	0.8	4.9	-	4.5	2.8	1.4	11.8	-	4.8
6	11.97	épicatechine (flavonol)	-	2.3	-	1.7	-	-	6.5	-	-
7	12.9	acide caféique		1.2	-	-	1.1	-	-	-	-
8	15.3	acide 2,4 dihydroxy cinnamique	-	3.1	-	1.6	-	1.1	4.6	4.6	-
9	18.07	6-hydroxycoumarine		0.5		0.5					3.5
10	19.15	acide 3,4-dihydroxybenzoïc méthyl ester	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-
11	19.88	acide 7-hydroxycoumarin-3-carboxylique	1.2	-	-	-	-	-	-	-	-
12	20.94	acide férulique	-	2.8	-	1.1	-	-	-	-	-
13	21.19	acide coumarique	-	-	-	-	-	0.6	3.4	2.1	-
14	22.74	rutine hydrate	-	-	1.7	-	-	5.1	-	-	-
15	23.56	acide sinapique	-	3.6	-	-	-	-	5.1	2.9	-
16	25.94	isoquercitrine (flavonoïde glucoside)	-	4.8	-	0.8	1.1	-	12.3	-	-
17	27.41	trihydroxyéthylrutine	-	-	-	-	-	2.4	-	-	14.2
18	39.89	acide salvianolique B	0.5	1.0	-	-	-	-	2.5	-	-
19	41.56	7,3- dihydroxy flavone	-	-	-	-	-	-	6.5	1.3	-
20	42.78	5,7-dihydroxy-4-propylcoumarine (tanin)	-	3.6	-	-	1.6	-	7.9	-	-

21	44.28	5,6,7-trihydroxyflavone (baicalein)	-	24.3	3.4	5.8	3.5	11.9	45.4	36.7	-
22	45.34	trans-2-hydroxycinnamate d'éthyle (tanin)	9.7	-	-	--		6.0	-	-	-
23	46.18	acide 4-hydroxy-3-propylbenzoïque méthyl ester	-	-	24.2	-	-	-	-	-	-
24	46.98	cinnamyl-3,4-dihydroxy- α -cyanocinnamate (tanin)	-	-	20.0	-		-	-	-	13.9
25	47.54	3,7-diméthoxyflavone	-	10.8	-	6.6	5.0	7.5-	-	-	-
26	47.56	3,3'-diméthoxyflavone	8.5	-	-	-	-	-	-	7.9	-
27	48.5	5-hydroxyflavone	-	7.7	-	4.2	3.7	3.4	7.3	-	-
28	49.54	β -carotène	3.0	-	77.7	-	-	-	-	-	82.1
29	50.12	lycopène	-	4.2	124.5	-	-	-	7.7	10.7	66.8
30	50.47	lutéine	-	0.4	-	0.3	-	-	-	-	4.0

Références bibliographiques

- [1] Toor M, Kumar SS, Malyan SK, Bishnoi NR, Mathimani T, Rajendran K *et al.* An overview on bioethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Chemosphere*. 2020; 242: 125080.
- [2] Rastogi M, Shrivastava S. Recent advances in second generation bioethanol production: An insight to pretreatment, saccharification and fermentation processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2017; 80: 330–340.
- [3] Galanakis CM, Goulas V, Tsakona S, Manganaris GA, Gekas V. A knowledge base for the recovery of natural phenols with different solvents. *International Journal of Food Properties*. 2013; 16(2): 382-396.
- [4] Kruis AJ, Levisson M, Mars AE, der Ploeg MV, Daza FG, Ellena V *et al.* Ethyl acetate production by the elusive alcohol acetyltransferase from yeast. *Metabolic Engineering*. 2017; 41: 92-101.
- [5] Smith RL, Cohen SM, Doull J, Feron VJ, Goodman JI, Marnett L *et al.* Criteria for the safety evaluation of flavoring substances: The expert panel of the flavor and extract manufacturers association. *Food and Chemical Toxicology*. 2005; 43: 1141-1177.
- [6] Grassino AN, Brncić M, Vikić-Topić D, Roca S, Dent M, Brncić SR. Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*. 2016; 198: 93-100. Enzymes impliquées dans la dégradation des polysaccharides – Projet de fin d'études (rapport-gratuit.com).
- [7] Strati IF, Oreopoulou V. Recovery of carotenoids from tomato processing by-products – a review. *Food Research International*. 2014; 65 : 311–321.
- [8] Nour V, Panaite TD, Ropota M, Turcu R, Trandafir I, Corbu AR. Nutritional and bioactive compounds in dried tomato processing waste. *CyTa-Journal of Food*. 2018; 16 (1): 222-229.
- [9] Silva Y, Ferreira T, Celli GB, Brooks MS. Optimization of lycopene extraction from tomato processing waste using eco-friendly ethyl lactate–ethyl acetate solvent: a green valorization approach. *Waste and Biomass Valorization*. 2019; 10(10): 2851-2861.
- [10] Szabo K, Teleky B-E, Ranga F, Roman I, Khaoula H, Boudaya E, *et al.* Carotenoid recovery from tomato processing by-products through green chemistry. *Molecules*. 2022; 27(12): 3771.

- [11] Lenucci MS, Caccioppola A, Durante M, Serrone L, Leonardo R, Piro G, et al. Optimisation of biological and physical parameters for lycopene supercritical CO₂ extraction from ordinary and high-pigment tomato cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010; 90(10): 1709-1718.
- [12] Scaglia B, D'Incecco P, Squillace P, Dell'Orto M, De Nisi P, Pellegrino L, et al. Development of a tomato pomace biorefinery based on a CO₂-supercritical extraction process for the production of a high value lycopene product, bioenergy and digestate, *Journal of Cleaner Production*. 2020; 243: 118650.
- [13] Lenucci MS, Cadinu D, Taurino M, Piro G, Dalessandro M. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008; 54: 2606-2613.
- [14] Savatovic S, Cetkovic G, Canadanovic-Brunet J, Djilas S. Tomato waste: A potential source of hydrophilic antioxidants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2012; 63(2): 129-137.
- [15] Cetkovic G, Savatovic S, Canadanovic-Brunet J, Djilas S, Vulic J, Mandic A, et al. Valorisation of phenolic composition, antioxidant and cell growth activities of tomato waste. *Food Chemistry*. 2012; 133(3): 938-945.
- [16] Rahmani R, Bouajila J, Jouaidi M, Debouba M. African mustard (*Brassica tournefortii*) as source of nutrients and nutraceuticals properties. *Journal of Food Science*. 2020; 85(6): 1-16.
- [17] Khalid Al-Ishaq R, Abotaleb M, Kubatka P, Kajo K, Büsselberg D. Flavonoids and their anti-diabetic effects: cellular mechanisms and effects to improve blood sugar levels. *Biomolecules*. 2019; 9(9): 430.
- [18] Gheonea I, Aprodu I, Circiumaru A, Rapeanu G, Bahrim GE, Stanciuc N. Microencapsulation of lycopene from tomatoes peels by complex coacervation and freeze-drying: Evidences on phytochemical profile, stability and food applications. *Journal of Food Engineering*. 2021; 288: 110166.
- [19] Devi KP, Malar DS, Nabavi SF, Sureda A, Xiao J, Nabavi SM et al. Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. *Pharmacological Research*. 2015; 99: 1-10,
- [20] Pergola C, Jazzar B, Rossi A, Buehring U, Luderer S, Dehm F, et al. Cinnamyl-3,4-dihydroxy- α -cyanocinnamate is a potent inhibitor of 5-lipoxygenase. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2011; 338: 205-213.

- [21] Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*. 2019; 299: 125124.
- [22] Abbasi-Parizad P, De Nisi P, Adani F, Pepé Sciarria T, Squillace P, Scarafoni A, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the crude extracts of raw and fermented tomato pomace and their correlations with aglycate polyphenols. *Antioxidants*. 2020; 9(2): 1-14.
- [23] Le N, Malterud KE, Diallo D, Paulsen BS, Nergård CS, Wangensteen H. Bioactive polyphenols in *Ximenia americana* and the traditional use among Malian healers. *Journal Ethnopharmacol*. 2012; 139(3): 858-862.
- [24] Khelifi I, Hayouni E, Cazaux S, Ksouri R, Bouajila J. Evaluation of *in vitro* biological activities: antioxidant; anti-inflammatory; anti-cholinesterase; anti-xanthine oxidase, anti-superoxide dismutase, anti- α -glucosidase and cytotoxic of 19 bioflavonoid. *Cellular and Molecular Biology*. 2020; 66(1): 9-19.
- [25] Gouthamchandra K, Sudeep HV, Venkatesh BJ, Shyam Prasad K. Chlorogenic acid complex (CGA7), standardized extract from green coffee beans exerts anticancer effects against cultured human colon cancer HCT-116 cells. *Food Science and Human Wellness*. 2017; 6(3): 147-153.
- [26] Ahmed HA, Salama ZA, Salem SH, Aly HF, Nassrallah A, Abou-Ellella F, et al. Lycopene nanoparticles ameliorate the antioxidants, antimicrobial and anticancer potencies of tomato pomace. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2021; 64(7): 3739-3749.
- [27] Roy MK, Nakahara K, Thalang VN, Trakoontivakorn G, Takenaka M, Isobe S, et al. Baicalein, a flavonoid extracted from a methanolic extract of *Oroxylum indicum* inhibits proliferation of a cancer cell line *in vitro* via induction of apoptosis. *Pharmazie*. 2007; 62: 149-153.
- [28] Banjarnahor S, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal Indonesia*. 2014; 23: 239-244.
- [29] Hyun J, Woo Y, Hwang D, Jo G, Eom S, Lee Y, et al. Relationships between structures of hydroxyflavones and their antioxidative effects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2010; 20(18): 5510–5513.

- [30] Cataneo A, Avila E, Mendes L, Guedes de Oliveira V, Ferraz C, Vieira de Almeida M, et al. Flavonoids as molecules with anti-Zika virus activity. *Frontiers in Microbiology*. 2021; 12: 1-16.
- [31] Gadea G, Bos S, Krejbich-Trotot P, Clain E, Viranaicken W, El-Kalamouni C, et al. A robust method for the rapid generation of recombinant Zika virus expressing the GFP reporter gene. *Virology*. 2016; 497: 157-162.
- [32] Gaafar AA, Asker MS, Salama ZA, Bagato O, MA A. In-vitro, antiviral, antimicrobial and antioxidant potential activity of Tomato pomace. *International Journal of Pharmaceutical sciences and Research*. 2015; 32(2): 262-272.
- [33] Behl T, Rocchetti G, Chadha S, Zengin G, Bungau S, Kumar A, et al. Phytochemicals from plant foods as potential source of antiviral agents: an overview. *Pharmaceuticals*. 2021; 14(4): 381.
- [34] Oo A, Teoh BT, Sam SS, Abu Bakar S, Zandi K. Baicalein and baicalin as Zika virus inhibitors. *Archives of Virology*. 2019; 164(2): 585-593.
- [35] Gaudry A, Bos S, Viranaicken W, Roche M, Krejbich-Trotot P, Gadea G, et al. The flavonoid isoquercitrin precludes initiation of Zika virus Infection in human cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(4): 1093.
- [36] Clain E, Haddad JG, Koishi AC, Sinigaglia L, Rachidi W, Desprès P, et al. The polyphenol-rich extract from *Psiloxylon mauritianum*, an endemic medicinal plant from Reunion Island, inhibits the early stages of dengue and Zika virus infection. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(8): 1860.
- [37] Sarkar K, Das R. Preliminary identification of hamamelitannin and rosmarinic acid as COVID-19 inhibitors based on molecular docking. *Letters in Drug Design & Discovery*. 2021; 17(1): 67-75.
- [38] Choudhari SM, Ananthanarayan L. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. *Food chemistry*. 2007; 102 (1): 77-81.
- [39] Papoutsis K, Vuong QV, Pristijono P, Golding JB, Bowyer MC, Scarlett CJ, et al. Enhancing the total phenolic content and antioxidants of lemon pomace aqueous extracts by applying UV-C irradiation to the dried powder. *Foods*. 2016; 5: 1-10.

- [40] Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000; 72: 35-42.
- [41] Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*. 1995; 28: 25–30.
- [42] Oueslati MH, Guetat A, Bouajila J, Alzahrani AK, Basha J. *Deverra tortuosa* (Desf.) DC from Saudi Arabia as a new source of marmin and furanocoumarins derivatives with α -glucosidase, antibacterial and cytotoxic activities. *Heliyon*. 2021; 7(4): 1-8.
- [43] Saidi I, Manachou M, Znati M, Bouajila J, Jannet HB. Synthesis of new halogenated flavonoid-based isoxazoles: *in vitro* and *in silico* evaluation of α -amylase inhibitory potential, a SAR analysis and DFT studies. *Journal of Molecular Structure*. 2022; 1247: 1-16.
- [44] Dawra M, El Rayess Y, El Beyrouthy M, Nehme N, El Hage R, Taillandier P, et al. Biological activities and chemical characterization of the Lebanese endemic plant *Origanum ehrenbergii* Boiss. *Flavour and Fragrance Journal*. 2020, 1-13.

Chapitre III: Couplage entre extraction et formulation de molécules bioactives pour une application cosmétique

1.	Introduction	82
2.	Synthèse des solvants eutectiques	84
3.	Extraction de drêches par les DES	85
4.	Caractérisation des NaDES synthétisés.....	86
4.1.	Analyses Infra-rouge.....	86
4.2.	Les analyses thermiques	89
5.	Analyse des extraits.....	90
6.	Analyses HPLC-DAD	92
7.	Méthodologie pour la formulation.....	94
7.1.	Formulation du masque peel-off	95
7.2.	Formulation de baume à lèvres	96
7.3.	Formulation d'un masque hydrosoluble.....	96
7.4.	Formulation d'une crème hydratante	97
8.	Application des formulations	98
9.	Conclusion.....	99
10.	Partie expérimentale	100
10.1.	Préparation de drêches de tomates	100
10.2.	Méthodes d'extraction	100
10.2.1.	Extraction avec le mélange Glycérol/Glucose	100
10.2.2.	Extraction avec le mélange DL-menthol/Acide lactique	101
10.3.	Analyses infrarouges à transformée de Fourier (FTIR).....	101
10.4.	Analyses thermiques.....	101
10.5.	Analyse par chromatographie liquide haute pression (HPLC-DAD)	102
10.6.	Détermination de la composition.....	102
10.6.1.	Teneur totale en flavonoïdes	102
10.6.2.	Teneur totale en caroténoïdes	103
10.6.3.	Teneur totale en polyphénols	103
10.7.	Préparation des émulsions cosmétiques	103
10.7.1.	Formulation du masque peel-off.....	103
10.7.2.	Formulation de baume à lèvres	104
10.7.3.	Formulation de masque hydrosoluble	104
10.7.4.	Formulation de crème hydratante	104

1. Introduction

Actuellement, on observe une forte tendance du marché pour les produits formulés à partir d'ingrédients naturels. Ce contexte représente l'opportunité de développer des produits innovants, limitant à la fois les impacts sanitaires et environnementaux. La biomasse représente un large gisement de métabolites secondaires, qu'il faut parvenir récupérer en mettant en œuvre des procédés verts, en accord avec la naturalité des formulations visées. Ainsi, le domaine de la cosmétique est sans cesse à la recherche d'actifs végétaux pour répondre aux spécifications des différents soins de la peau. Dans ce domaine, les matières premières sont sélectionnées avec soin en fonction de leur origine, leur qualité et leur coût. L'étude de [Soto et al. \[1\]](#) montrent que les extraits éthanoliques de marc de raisin, de copeaux de pin, de fleurs d'acacia et de Shiitake (champignon) répondent aux attentes d'efficacité quand ils sont formulés en produits d'hygiène.

L'utilisation de co-produits de l'agriculture représente une source de métabolites disponibles, évitant l'utilisation de cultures dédiées. Ces nouvelles filières d'approvisionnement ont des empreintes écologiques moindres et contribuent à une meilleure gestion des déchets de biomasse. [Barbulova et al. \[2\]](#) attirent néanmoins l'attention sur la qualité microbiologique des co-produits agricoles et sur la présence éventuelle de résidus de pesticides.

Pour illustrer le rôle d'un co-produit dans une formulation, des extraits hydroalcooliques de marc de cassis ont été inclus dans une base cosmétique anti-âge [3]. Les travaux de [Cariço et al. \[4\]](#) ont montré que les acides phénoliques extraits des écorces, co-produit de l'industrie forestière ont un potentiel intéressant pour préparer des crèmes aux propriétés anti-oxydantes, anti-âges et anti-inflammatoires (peau acnéique). Par ailleurs, les tomates non commercialisables réduites en poudre après séchage, ont servi de sources en vitamines A, B et C, d'acide folique et de phytostérols pour une crème [5]. De plus, le lycopène issu des peaux de tomates, introduit dans une émulsion, contribue à lutter contre les dommages cutanés induits par les rayons UV B (mécanisme de photoprotection) [6].

Les méthodes d'extraction usuelles consistent à mettre en contact une matière végétale avec un solvant (eau ou solvant organique). Cette première étape est suivie d'une séparation entre la matière végétale et le solvant (filtration, centrifugation...) puis de l'évaporation du solvant pour obtenir un extrait. Ce dernier, éventuellement purifié, doit être par la suite resolubilisé, pour être formulé. Afin de diminuer le nombre d'étapes et les problèmes de solubilité et afin d'éviter des mesures de sécurité coûteuses, certains laboratoires préfèrent

travailler en milieu aqueux (éventuellement avec une enzyme) ou en utilisant une matrice d'extraction du type glycérol, propylène glycol ou huile végétale, matrices qui peuvent être conservées par la suite dans la formulation. Ainsi, Salem et al. [7] ont obtenu des fractions riches en polyphénols par une extraction hydro-glycérique des pépins de raisins (issus du marc de raisin) à 40°C pendant 2 h. Le milieu glycérique a été utilisé pour la formulation d'une crème aux propriétés anti-oxydantes. D'autres auteurs ont réalisé l'extraction de molécules naturelles à l'aide de solvants (naturels) eutectiques profonds (DES ou NaDES). On peut citer les travaux de Huang et al. [8] qui ont extrait des fractions riches en rutine à partir du son de blé à l'aide du NaDES issus de l'association entre le chlorure de choline et le glycérol. Panic et al. [9] ont, quant à eux, isolé des anthocyanines à partir du marc de raisin à l'aide du NaDES composé de chlorure de choline et d'acide citrique à l'échelle du demi litre et ont réussi à le recycler.

Ces solvants NaDES ont connu un développement important au cours des dernières années [10]. En effet, ils sont non volatils, non toxiques, ont une grande stabilité thermique, et peuvent être recyclés [11]. Ils sont préparés en mélangeant un composé donneur de liaison hydrogène (HBD) et un composé accepteur de liaison hydrogène (HBA) selon un certain rapport molaire. Les composés HBD sont des acides organiques, des sucres, des alcools, des amines ou des acides aminés. Les composés HBA sont des sels d'ammonium quaternaires tels que le chlorure de choline [12] (figure III-1).

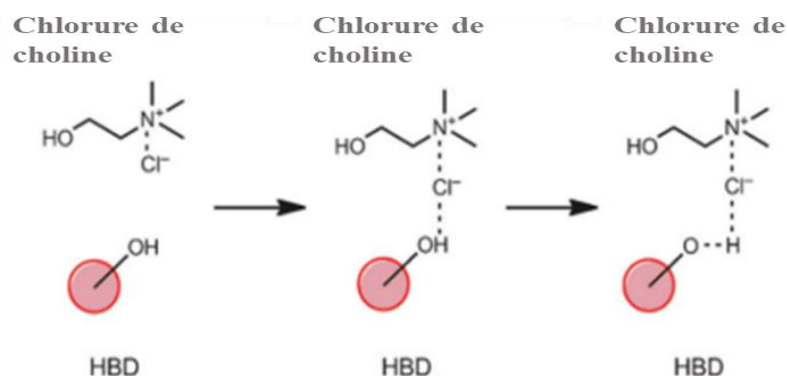


Figure III-1 : Exemple d'interaction d'un HBD avec le sel d'ammonium quaternaire choline chloride [10]

Leur préparation se déroule généralement à une température inférieure à 80°C sous agitation. A la composition eutectique, le point de fusion du mélange est abaissé par rapport aux points de fusion des composés pris séparément.

Popovic et al. [13] ont testé le NaDES « chlorure de choline : acide malique » associé à une activation microondes pour extraire les anthocyanes du marc de cerises, ce qui a permis de réduire le temps de préparation du DES et la durée d'extraction. Concernant les drêches de tomates, nous pouvons citer quatre études très récentes. Concernant les drêches de tomates, Silva et al. [14] et Lazzarini et al. [15] ont amélioré le rendement d'extraction des caroténoïdes en utilisant les mélanges « DL-menthol : acide lactique » ou « acétate d'éthyle : lactate d'éthyle ». après un séchage sous air des drêches. Par ailleurs, Vorobyova et al. [16] ont utilisé les DES « chlorure de choline : 1,2-propanediol » et « chlorure de choline : acide lactique » pour extraire sous ultrasons (65°C, 60 min), des acides phénoliques à partir de drêche de tomate, et ont mesuré les activités anti-oxydantes. Vasyliiev et al. [17] ont montré que le second DES riches en acides phénoliques et flavanols pouvaient être utilisés dans une formulation de crème dotée de propriétés antifongiques. L'acide chlorogénique a été détecté comme l'acide phénolique le plus abondant dans les extraits. La séparation des métabolites reste toutefois aléatoire et à mettre au point pour chaque cas.

L'objectif de ce chapitre est d'utiliser les drêches de tomates comme une source de molécules bénéfiques, en couplant les étapes d'extraction et de formulation. Il s'agit de faire appel à un NaDES pour optimiser la biodisponibilité des métabolites des drêches. Les métabolites extraits sont analysés par HPLC, avant leur intégration dans une formulation filmogène pour la cosmétique.

2. Synthèse des solvants eutectiques

Nous avons choisi de synthétiser quatre solvants eutectiques profonds pour effectuer l'extraction de métabolites des drêches (**tableau III-1**). Ces NaDES sont déjà mentionnés dans la littérature pour l'extraction de molécules naturelles ; deux d'entre eux n'ont jamais été appliqués aux drêches. L'addition d'eau dans certains solvants eutectiques a permis d'ajuster la viscosité.

Tableau III-1 : Composition des DES sélectionnés

N°	Composition	Ratio molaire	% d'eau	Molécules cibles extraites / matière végétale	Source
DES 1	Glycérol + glucose	3:1	30	Acides gras et pigments / microalgues <i>Spirulina</i> .	Wils, 2021 [31]
DES 2	DL-menthol + acide lactique	8:1	0	Lycopène / drêche de tomates	Silva, 2019 [14]
DES 3	Glucose + Acide lactique	5:1	15	Composé phénoliques / drêche de tomates Tourteaux d'olives	Fernandez, 2018 [24]
DES 4	Glycérol + L-proline	1:2,5	30	Composé phénoliques/ Feuilles de Moringa	Wu, 2020 [32]

Comme indiqué dans le tableau, des mélanges glucose/glycérol ont été utilisés pour extraire les acides gras et les pigments des microalgues *Spirulina*, le mélange résultant ayant révélé une activité anti-inflammatoire vis-à-vis des kératinocytes de la peau [31]. Quant au mélange hydrophobe DL-menthol/acide lactique, il a été utilisé pour extraire, sous ultrasons (60°C, 30 min), des taux élevés de lycopène à partir des drêches de tomates [14]. Fernandez et al. [24] ont appliqué le mélange glucose/acide lactique avec 15 % d'eau, sous ultrasons (60 min) à plusieurs sous-produits industriels dont les drêches de tomates. Le mélange permet d'extraire à la fois des polyphénols et des molécules moins polaires. Nous avons également sélectionné le mélange glycérol/L-proline précédemment utilisé pour extraire à 40°C, à partir des feuilles de *Moringa oleifera* L., une combinaison de composés phénoliques et de flavonoïdes favorable au pouvoir antioxydant [32].

3. Extraction de drêches par les DES

Les drêches broyées ont été mises en contact avec un des DES à 40 ou 50 °C, pendant 30 ou 60 min (**figure III-2**). Les drêches solides ont été séparées par centrifugation, avant de réaliser l'analyse des métabolites présents dans les DES. Les DES contenant les métabolites seront ensuite intégrés aux formulations.

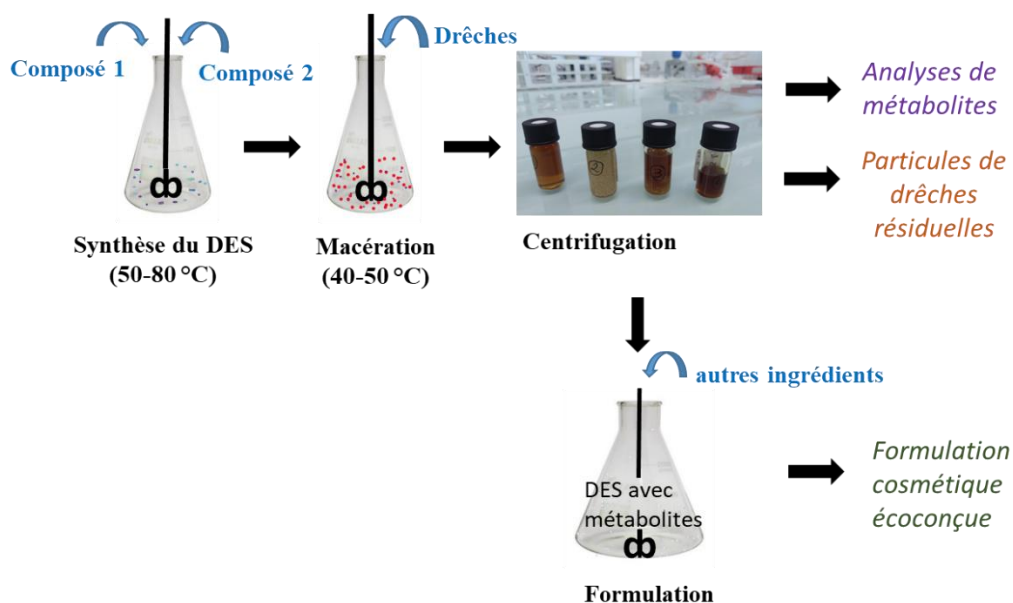


Figure III-2 : Principe du couplage extraction/ formulation

Les conditions d'extraction sont rassemblées dans le **tableau III-2**.

Tableau III-2 : Conditions d'extraction avec les DES

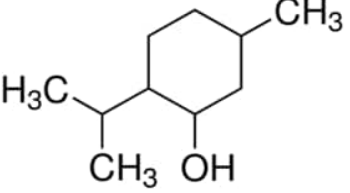
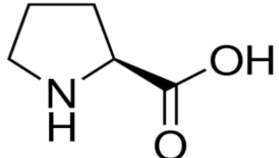
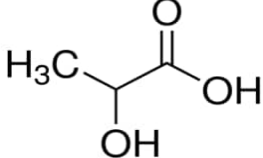
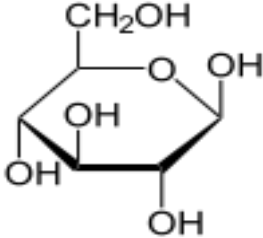
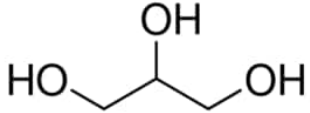
N°	Conditions d'extraction	Quantité de DES	Masse de Drêches (g)
DES 1	Macération -2 h à 40 °C	32 g	2
DES 2	Macération - 30 min à 50 °C	20 g	3,4
DES 3	Ultrason - 1h à 40 °C	40 ml	2
DES 4	Ultrason -1 h à 40 °C	20 ml	2

4. Caractérisation des NaDES synthétisés

4.1. Analyses Infra-rouge

Des spectres infra-rouge des NaDES ont été réalisés de façon à identifier les bandes caractéristiques provenant des interactions électroniques entre les deux composants (**tableau III-4**) (Annexe 3).

Tableau III-3 : Formules des molécules entrant dans la composition des NaDES synthétisés

Formules	Composés
	DL-menthol
	L-proline
	Acide lactique
	D-Glucose
	Glycérol

La formation des NaDES peut être mise en évidence par le déplacement des bandes de vibrations impliquant des hétéroatomes, par rapport aux fréquences observées sur les spectres de chaque composant. Ces déplacements sont dus aux interactions électroniques entre les deux composants du NaDES.

Tableau III-4 : Principales bandes Infra-rouge des NaDES synthétisés

	Composant des NaDES	Bandes caractéristiques des composants (en cm^{-1})	Bandes caractéristiques des NaDES résultants (en cm^{-1})
DES1	D-Glucose	$\nu(\text{O-H}) = 3200 - 3400$ $\delta(\text{O-H}) = 1506 *$ $\nu(\text{C-OH}) = 1338, 1297$ $\nu(\text{C-O}) = 1151$	$\nu(\text{O-H}) = 3276$ $\delta(\text{O-H}) = 1645 *$
	Glycérol	$\nu(\text{O-H}) = 3261$ $\delta(\text{O-H}) = 1623 *$	
DES2	DL- menthol	$\nu(\text{O-H}) = 3327$ $\delta(\text{C-H}) \text{ à } 1452, 1368, 1342 (\text{CH}_3)$	$\nu(\text{O-H}) = 3343$ $\nu(\text{C=O}) = 1719$ $\delta(\text{C-H}) = 1452 (\text{CH}_3)$ (élargie)
	Acide lactique	$\nu(\text{O-H}) = 3200-3600$ $\nu(\text{C=O}) = 1716$ (fine) $\delta(\text{O-H}) = 1643 *$	
DES3	D-Glucose	$\nu(\text{O-H}) = 3200- 3400$ $\delta(\text{O-H}) = 1506 *$ $\nu(\text{C-OH}) = 1338, 1297$ $\nu(\text{C-O}) = 1151$	$\nu(\text{O-H}) = 3357$ $\nu(\text{C=O}) = 1720$ $\delta(\text{O-H}) = 1643*$
	Acide lactique	$\nu(\text{O-H}) = 3200-3600$ $\nu(\text{C=O}) = 1716$	
DES4	L-Proline	$\nu(\text{O-H, N-H}) = 3648$ $\nu(\text{C=O}) = 1609$ (amide II) $\delta(\text{N-H}) = 1557$ (amide II) $\nu(\text{C-OH}) = 1160$	$\nu(\text{O-H, N-H}) = 3252$ (élargie) $\nu(\text{C=O}) = 1616$ $\nu(\text{C-OH}) = 1109$
	Glycérol	$\nu(\text{O-H}) = 3261$ $\nu(\text{C-OH}) = 1623 *$ $\nu(\text{C-OH}) = 1027$	

*déformation angulaire du groupe H-O-H de molécules d'eau [18]

Pour les DES 1 et DES 3, la bande due à la déformation angulaire de H-O-H (molécules d'eau) subsiste à 1645 cm^{-1} . Ce pic a été observé par [Santana et al. \[18\]](#) pour plusieurs NaDES contenant de l'eau.

Pour le DES 1, DES 3 et DES 4, la formation de liaisons hydrogène impliquant les groupes OH (et NH pour le DES 4) au sein des NaDES, se traduit par un déplacement de la bande de vibration d'extension O-H (ou N-H) vers une plus basse fréquence.

Pour les DES 3 et DES 4, la bande de vibration de la liaison C=O est élargie par la formation de liaisons hydrogène avec l'atome d'oxygène, phénomène observé par [Ali et al. \[19\]](#) pour le mélange DL-menthol /acide caprylique.

Le spectres infra-rouge de chaque NaDES permet de mettre en évidence les interactions au sein du liquide eutectique, et de vérifier ainsi, que la structure cristalline des précurseurs s'est modifiée en une phase vitreuse, non ordonnée.

4.2. Les analyses thermiques

Pour synthétiser les NaDES et les utiliser pour l'extraction, il est nécessaire de connaître leur stabilité en fonction de la température. Les propriétés thermiques sont influencées par la nature des précurseurs, par la teneur en eau et par la force des interactions entre molécules. Des températures de décomposition (T_d) peuvent être déterminées pour évaluer un domaine de température d'utilisation. L'analyse calorimétrique différentielle à balayage indique les températures de transition vitreuse (T_g) caractéristiques.

[Ribeiro et al. \[20\]](#) ont étudié le mélange DL-menthol : acide lactique (2:1) pour lequel ils ont mesuré une température de décomposition de 229°C ainsi qu'une température de transition vitreuse de -61°C. [Craveiro et al. \[21\]](#) ont observé une diminution de la transition vitreuse en ajoutant de l'eau au mélange chlorure de choline : xylose (2:1) (environ 4°C pour 5 % d'eau ajoutée).

Des thermogrammes des quatre NaDES préparés ont été réalisés entre 20°C et 600°C pour obtenir les profils de pertes de masse en fonction de la température. La calorimétrie différentielle à balayage couvre le domaine de température de -100 à 40 °C (**Annexe 4**). Les informations liées à la montée en température sont rassemblées dans le **tableau III-5**.

Tableau III-5 : Résultats des analyses thermiques des NaDES

NaDES	Composition	% d'eau	T_d (°C)	T_g (°C)	T_c (°C)	T_f (°C)
DES 1	Glycérol/ glucose (3:1)	30	180			
DES 2	DL-menthol/ acide lactique (8:1)	0	120	-54	-15	≈ 10
DES 3	Glucose/ acide lactique (5:1)	15	130	-75,1		
DES 4	Glycérol/L-proline (1:2,5)	30	180	-66,4		

T_d : température de décomposition (ATG), T_c : température de cristallisation (DSC), T_g : température de transition vitreuse (DSC)

Les NaDES synthétisés montrent des stabilités atteignant 120, 130 ou 180°C selon les constituants. La stabilité thermique la plus élevée a été mesurée pour les DES 1 et 4 avec une température de décomposition $T_d=180^\circ\text{C}$. [Delgado-Mellado et al. \[22\]](#) ont observé que cette température est généralement intermédiaire entre les températures de décomposition des constituants purs. Comme indiqué par [Dai et al. \[23\]](#), les NaDES comportant des sucres, tels que le DES1 et DES3, ont des températures de décompositions inférieures à 200°C.

Le DES 2 de composition (8 :1) présente une température de transition vitreuse à -54°C puis un pic exothermique de cristallisation à -15°C ($-7,8\text{ J/g}$). On observe un pic de fusion à 10°C ($7,7\text{ J/g}$), température inférieure aux pics de fusion du DL-menthol (27°C et 34°C pour les formes polymorphes α et β de la molécule) [\[20\]](#). Ces derniers sont absents du graphe DSC obtenu, ce qui confirme la formation du NaDES.

Les températures de transitions vitreuses déterminées pour les DES 2, DES 3 et DES 4 sont inférieures à -50°C et constituent des caractéristiques des NaDES synthétisés. Ces températures attestent que les NaDES sont des complexes supramoléculaires, avec une phase liquide stable sur une plage de température assez large [\[23\]](#).

5. Analyse des extraits

Les teneurs totales en phénols (TTP) ont été déterminées dans les DES après extraction (**tableau III-6**). Pour le dosage des polyphénols, certains composants de DES réagissent avec le réactif de Folin (la solution vire au bleu), ce qui a invalidé la mesure pour le DES 1 (glycérol/glucose), le DES 2 (DL-menthol/acide lactique) et le DES 4 (glycérol/L- proline). Pour le DES 3, on observe que le taux de polyphénols extraits ($1915,47\text{ }\mu\text{g/g}$ de drêches) est plus élevé que celui réalisé avec l'acétate d'éthyle ($786,71\text{ }\mu\text{g polyphénols/g drêches}$), mais nettement moins élevé que ceux obtenus avec les solvants polaires et le CO_2 supercritique (cf. Chapitre 2).

Tableau III-6 : Comparaisons des taux de polyphénols extraits

Solvant extracteur	Taux de polyphénols extraits (µg /g de drêches)
DES 3 (acide lactique/glucose)	1915, 5 ± 15
Acétate d'éthyle	786,7 ± 8
CO ₂ Supercritique	3062,9 ± 21
Ethanol + eau	3251,7 ± 19
Ethanol	3489,5 ± 25

Les teneurs totales en flavonoïdes présentées dans le **tableau III-7** montrent que le DES 3 (acide lactique/glucose) permet d'obtenir le taux de flavonoïdes le plus élevé (1410,9 µg de flavonoïdes/g drêches) comparé aux autres DES. Le DES 2 présente peu d'affinité avec les flavonoïdes, car plus il est plus adapté à l'extraction des molécules apolaires. D'après les résultats obtenus, l'éthanol reste le solvant le plus approprié pour extraire cette famille de composés avec 3479 µg de flavonoïdes/g drêches.

Tableau III-7 : Comparaisons des taux de flavonoïdes extraits

Solvant d'extraction	Taux de flavonoïdes extraits (µg /g de drêches)
DES 1	439, 5 ± 8
DES 2	50,5 ± 5
DES 3	1410, 9 ± 15
DES 4	893, 5 ± 10
Ethanol	3479, 0 ± 21
Ethanol + acétate d'éthyle	1853, 1 ± 13
CO ₂ -Supercritique	1174, 8 ± 12
Acétate d'éthyle	42,0 ± 4

Les résultats montrent que le DES 3 (acide lactique/glucose) est le plus efficace parmi les quatre DES pour solubiliser les phénols et les flavonoïdes de drêches.

Fernandez et al. [24], ont identifié 14 composés phénoliques par HPLC-DAD dans les drêches de tomates après une extraction avec un mélange « glucose/acide lactique » sous ultrasons. Par ailleurs, le DES « chlorure de choline : acide lactique » a permis d'obtenir, en équivalent acide gallique, 51.75 mg EAG/ g extrait alors qu'un mélange éthanol/ eau a conduit à 27.10 mg EAG/g extrait. Le DES « chlorure de choline: 1,2-propanediol » s'est montré également efficace pour l'extraction des flavonoïdes, en équivalent quercétine (21,15 mg EQ/g extrait) [16]. Les valeurs obtenues lors de ces travaux restent tout de même inférieures aux teneurs en polyphénols et flavonoïdes trouvées avec les meilleurs solvants identifiés au chapitre 2.

Les taux de caroténoïdes extraits ont été déterminés par spectrophotométrie visible (**tableau III-8**). Le DES 2 (DL-menthol/acide lactique) est plus adapté à l'extraction des caroténoïdes, car sa polarité est plus faible, ce qui a été confirmé par les prédictions COSMO-RS de Vasiliev et al. [17]. Nous avons trouvé un taux de 96,4 µg de carotène/g TP avec ce DES, ce qui est inférieur à 1446,6 µg de lycopène/g MS obtenus par Silva et al. [15] dans des conditions similaires. Lazzarini et al. [16] ont montré l'influence du procédé de séchage des drêches sur les taux d'extraction des caroténoïdes avec un DES, ce qui pourrait expliquer cette différence. L'extraction réalisée par CO₂-SC a conservé le plus haut taux d'extraction des caroténoïdes.

Tableau III-8 : Comparaison des taux de caroténoïdes extraits

Solvant extracteur	Taux de caroténoïdes extraits (µg β-carotène/g de drêches)
DES 2 (DL-menthol/acide lactique)	96, 4 ± 4
CO ₂ supercritique	2895, 1 ± 26
Ethanol + acétate d'éthyle	1521,0 ± 17
Acétate d'éthyle	1293, 7 ± 15
Ethanol	849, 6 ± 12

6. Analyses HPLC-DAD

Les métabolites extraits par les DES ont été analysés *via* HPLC-DAD à 280 nm. Les chromatogrammes obtenus sont présentés dans la **figure III-3** et les composés identifiés sont indiqués dans le **tableau III-14**.

Les profils HPLC des extraits indiquent la présence des flavonoïdes suivants : myricétine, quercétine, vitamine E et kaempférol. En particulier, dans le **DES 3** ont été trouvés des acides phénoliques (acide gallique, acide férulique et acide caféique), des tanins (acide trans-3-hydroxycinnamic, 6-hydroxycoumarine, acide α -cyano-4-hydroxycinnamique), le lycopène ainsi que le flavonoïde suivant : 6-hydroxyflavone et le 5-hydroxy-3'-methoxyflavone. Le DES 4 permet d'extraire également l'épi catéchine et le 5-hydroxyflavone (flavonoides).

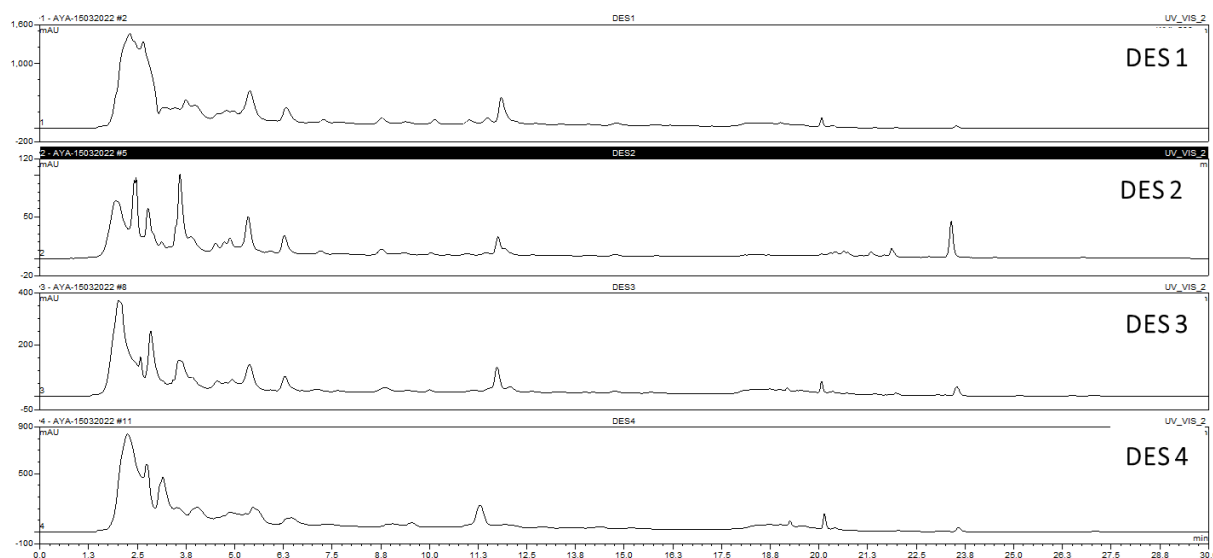


Figure III-3 : Chromatogrammes HPLC-DAD (280 nm) des milieux après extraction

Les quatre DES sont riches en acides phénoliques (acide férulique, caféique, coumarique, cinnamique), en caroténoïdes (lycopène, β -carotène, lutéine), en vitamines (C et E) et en flavonoides tels que l'épicatéchine (flavanol), la myricétine (flavanol), le kaempférol (flavanol), la baicaleine (flavone). Ces molécules confèrent des propriétés anti-oxydantes ou anti-inflammatoires qui sont intéressantes pour la peau. Par exemple, **l'acide férulique** est un piègeur de radicaux libres, mais aussi un inhibiteur des enzymes qui catalysent la génération de radicaux libres. Il a un rôle protecteur pour les principales structures de la peau et est intéressant pour ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes, même s'il a tendance à s'oxyder rapidement [25]. **Le lycopène** est le caroténoïde le plus abondant dans la tomate et possède des propriétés anti-oxydantes qui agissent pour inhiber les effets des UV. **Les phytostérols** contenus dans l'huile de pépin de tomate ont des propriétés réparatrices et cicatrisantes qui seront adaptées au baume à lèvres [26].

7. Méthodologie pour la formulation

La séparation des molécules extraites du DES (matrice d'extraction) n'est pas toujours aisée. On peut faire appel à l'ajout d'eau ou à l'ajout d'un solvant organique pour isoler les molécules extraites. Pour les travaux présents, nous avons choisi de conserver la totalité du milieu extractant pour la formulation, pour éviter cette étape de séparation. Nous avons ciblé plusieurs formulations cosmétiques pour lesquelles les molécules extraites sont intéressantes, formulations également compatibles avec la composition d'un DES. Dans une formulation, un composé anti-oxydant permet de retarder l'oxydation des autres molécules en inhibant les réactions en chaîne. Ce peut être des molécules endogènes ou exogènes. Un anti-oxydant va également lutter contre la formation des espèces réactives à l'oxygène (ROS) produites par le métabolisme et impliquées dans le mécanisme de vieillissement de la peau. Nous avons vu que le lycopène est un puissant anti-oxydant. Il a également été mis en évidence que les acides phénoliques ont la capacité d'inhiber les activités de la collagénase et de l'élastanase, enzymes qui interviennent respectivement dans la dégradation du collagène et de l'élastine [4]. Le même auteur a mis en évidence que des extraits de liège riches en acides phénoliques et en tanins ont permis de réguler la production de sérum, ce qui rend ces ingrédients intéressants pour des formulations contre l'acné. Parmi ces composés (acides phénoliques et tanins), certains ont montré des propriétés anti-microbiennes, tel que l'acide gallique présent dans les NaDES 2 et 3, ce qui est intéressant pour la conservation d'une émulsion.

Notons que d'après l'état de l'art, l'utilisation du lycopène dans une formulation galénique est une démarche très récente. La modification de la couleur et du parfum des formulations contenant un extrait riche en lycopène, n'est plus perçue comme un inconvénient, selon l'analyse sensorielle menée par [Costa et al.](#) [27].

En cosmétique, il existe plusieurs façons de protéger la peau et de l'embellir. Les formulations vont dépendre du mode d'utilisation et de la partie du visage concerné (peau, lèvres, yeux).

Un masque offre une façon efficace d'apporter à la peau des éléments nutritifs et d'assurer également un état d'hyperhydratation de l'épiderme, pour une amélioration de la texture de la peau [28]. Il peut s'agir d'un masque lavable à l'eau ou bien du type peel-off, qui adhère davantage à la peau pour enlever les impuretés.

Un baume pour lèvres doit hydrater, réparer et protéger contre le froid. Sa texture doit être agréable et non collante. Un baume comporte une base lipidique telle qu'huile de coco. [Azmin](#)

et al. [29] ont utilisé cette huile pour extraire le lycopène par macération de tomates sèches en poudre.

Une **crème hydratante** a pour propriétés de protéger la peau des agressions extérieures telles que le froid, la pollution et les UV.

Les analyses réalisées ont montré que les NaDES utilisés sont des matrices d'extraction appropriées pour concentrer un certain nombre de molécules bioactives présentes dans les drêches de tomate. L'incorporation des NaDES contenant ces métabolites a été réalisée en ciblant des formulations adaptées, à savoir les compositions de masques, d'une crème ou d'un baume (**figure III-4**).

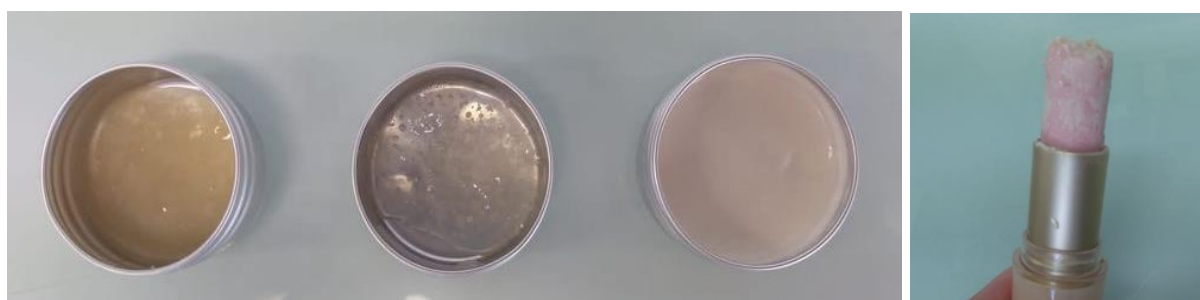


Figure III-4 : Formulations cosmétiques : masque peel-off, masque hydrosoluble, crème hydratante et baume à lèvres (de gauche à droite)

7.1. Formulation du masque peel-off

Le DES 1 (glycérol/glucose) est compatible avec la préparation d'un masque car le glycérol est un agent hydratant et le glucose est un agent humectant. Les propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires des molécules bioactives issues des drêches confèrent au masque des propriétés recherchées pour assainir et régénérer la peau. La formulation utilisée inclut un polymère synthétique soluble en phase aqueuse, l'alcool polyvinylique. Ce polymère permet la formation d'un film homogène et adhérent à la surface de la peau, film pouvant être retiré facilement après le temps d'application.

Tableau III-9 : Composition du masque peel off

Ingrédients	Composition (% massique)	Fonction
PVA *	15.0	Agent filmogène - contrôle de viscosité
Eau	69.1	Solvant
Extrait dans DES 1	11.4	Antioxydant - agent assainissant

Polyéthylène glycol 40	2.1	Agent filmogène et épaississant
Monolaurate de glycérol	1.0	Agent émollissant et émulsifiant
Ethanol	1	solubilisant et inhibiteur de l'activité microbienne
Cosgard	0.4	Conservateur

*PVA : alcool polyvinylique

7.2. Formulation de baume à lèvres

Le DES 2 (DL-menthol/acide lactique) a été choisi pour préparer un baume car le menthol peut être introduit à faible dose dans une formulation de baume à lèvres et apporte un effet rafraichissant (source : [Aromazone](#)). L'acide lactique permet de réguler le pH et la colonisation bactérienne de la préparation. Le DES 2 est riche en dérivés de la coumarine, en lutéine, β -carotène et hydroxy flavone, dont les propriétés anti-oxydantes vont protéger et réparer les lèvres. La texture est suffisamment solide pour être moulée sous forme de bâton. Fondante, elle s'étale facilement et forme un film lisse.

Tableau III-10 : Composition du baume à lèvres

Ingrédients	Composition (%massique)	Fonction
Cire Candelilla	10,4	Agent filmogène
Cire d'abeille	10,0	Agent émulsifiant, filmogène et parfumant
Huile de coco fractionnée (Caprylis)	46,3	Agent assouplissant
Extrait dans DES 2	2,3	Agent colorant (lycopène) et régénérant
Huile de Ricin	30,2	Agent nourrissant et réparateur
Extrait de framboise	7 gouttes	origine naturelle, accepté par ECOCERT

7.3. Formulation d'un masque hydrosoluble

Le DES 3 (acide lactique/glucose) est adapté pour formuler un masque hydrosoluble. L'acide lactique permet d'ajuster le pH pour une exfoliation en douceur. Le glucose présent dans le DES agit comme un humectant. La formulation doit s'étaler facilement sur la peau et former un film avec une adhérence modérée [28]. Le DES 3 est riche en acide gallique, acide cinnamique, kaempférol et hydroxyflavone, dont les propriétés anti-oxydantes sont susceptibles d'inhiber le processus de vieillissement de la peau.

Tableau III-11 : Composition du masque hydrosoluble

Ingrédients	Composition (% massique)	Fonction
Xanthane	7.5	Agent gélifiant et tensioactif
Extrait dans DES 3	5.23	Antioxydant / agent filmogène
Glycérol	20.5	Humectant
Eau	65.7	Solvant
Cosgard	1.0	Conservateur

7.4. Formulation d'une crème hydratante

Le DES 4 (glycérol/L-proline) est compatible avec une formulation d'une crème hydratante. Le glycérol est un agent hydratant. La L-proline est un des 20 acides aminés qui composent les protéines de notre corps. Cet acide aminé rentre dans le métabolisme du collagène et est utilisé comme agent d'entretien de la peau. Le DES 4 contient entre autre de puissants anti-oxydants, (l'épicatéchine, la myricétine), des hydroxy flavones, de la 6-hydroxycoumarine, du kaempférol et des acides phénoliques (acide férulique, acide caféique). La teneur de la crème en composés anti-oxydants, lui confère des propriétés anti-âge.

Tableau III-12 : Composition de la crème hydratante

Ingrédients	Composition (% massique)	Fonction
Eau	40.7	Solvant
Extrait dans DES 4	18.4	Antioxydant
Gomme de xanthane	0.3	Agent gélifiant, émulsifiant et tensioactif
Huile de jojoba	11.1	Emollient, entretien de la peau
Cire de Carnauba	0.9	Emollient
Glycérine Laurate	4.1	Agent adoucissant et hydratant
Beurre de Karité	3.4	Contrôle de viscosité, entretien de la peau
Amidon	3.6	Contrôle de viscosité
Ethanol	17.2	Solvant

8. Application des formulations

Les **pH** des formulations doit être compris entre 4,5 et 7,5 pour respecter le pH de la peau [30].

Les **temps de séchage** ont mesurés sur le film étalé à partir d'un dépôt de masse connue. Ils sont évalués entre 5 et 10 min. **Des tests d'étalement** ont été réalisés en déposant une goutte de la formulation (0.07 g) entre deux lames de verre, pour comparer leur texture (**figure III-5**).



Figure III-5 : Tests d'étalement des formulations (dépôt de 0,07 g)

De gauche à droite : masque peel-off, masque lavable, crème hydratante et baume à lèvres

Les diamètres d'étalement de chaque formulation sont indiqués dans **tableau III-13**. Logiquement, la crème hydratante plus fluide a le diamètre d'étalement le plus élevé. Les masques ont une texture plus épaisse, mais forme des films homogènes et translucides. Le baume a une texture plus consistante s'apparentant à une cire solide, mais suffisamment fondante pour épouser la surface.

Une goutte de NaDES a été également étalée au pinceau sur une carte de contraste (2 cm²), ce qui montre les propriétés filmogènes initiales des NaDES. Ces propriétés ont probablement contribué aux performances finales des formulations.

Tableau III-13 : Propriétés filmogènes des NaDES et des formulations

	Masque peel-off	Masque hydrosoluble	Crème hydratante	Baume à lèvres
Aspect du NaDES sec sur une carte de contraste	film mat et brillant	film lisse	film mat	film mat uniforme
Diamètre d'étalement des formulations (cm) *	1,5	2	3	1,2

**d'après la figure III-5*

Les caractéristiques des quatre NaDES semblent favorables à l'élaboration des formulations filmogènes incluant des molécules actives. La capacité de solubiliser des molécules polaires apparaît meilleure pour les DES 3 et 4. On notera également que les coûts des NaDES 1 et 3 (à base de glucose, de glycérol, d'acide lactique) sont plutôt modérés. Il faudra évaluer si la valeur ajoutée de la L-proline (pour la crème) et du DL-menthol (pour le baume) peut compenser le coût respectif des NaDES 2 et 4.

9. Conclusion

Dans ce chapitre, quatre solvants eutectiques de polarités et de compositions différentes ont été synthétisés et caractérisés. Les synthèses ont été réalisées à des températures modérées (50 - 80°C). Ces NaDES ont déjà été utilisés pour l'extraction de molécules naturelles, mais deux d'entre eux n'ont jamais été appliqués aux drêches. Les NaDES synthétisés ont été caractérisés par spectroscopie infrarouge, par analyses thermogravimétrie (TG) et par calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Ces analyses ont permis de collecter des données nouvelles sur ces NaDES et mettre en évidence les interactions entre les molécules, se traduisant par la formation d'une phase liquide stable jusqu'à la température de décomposition.

L'étude réalisée a montré que les NaDES sélectionnés sont adaptés à l'extraction des métabolites présents dans les drêches. Les temps de mises en contact avec les drêches sont de 1 à 2 heures, à 40-50 °C. Le NaDES « DL-menthol/acide lactique » a permis d'obtenir un mélange riche en composés peu polaires (caroténoïdes, lipides, tocophérol) tandis que les autres NaDES comportent de nombreux métabolites polaires. Ainsi, le NaDES « acide lactique/glucose » présentait les teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes les plus élevées. Néanmoins, les taux d'extraction en polyphénols et en caroténoïdes, ramenés à la matière sèche de départ (drêches) sont toutefois inférieurs à ceux obtenus avec l'éthanol notamment.

Ainsi, les NaDES permettent d'obtenir des extraits de qualité (sans résidu de solvant organique), comportant une large gamme de molécules. Les analyses HPLC ont permis d'identifier 39 molécules extraites, parmi lesquelles les hydroxy/méthoxy flavones, les acides phénoliques, les caroténoïdes et les tanins. Certaines molécules n'ont jamais été identifiées auparavant au sein d'un NaDES. Les analyses révèlent la capacité des NaDES à solubiliser des molécules de polarités variables.

Les étapes d'extraction et de formulation ont pu être associées de façon à intégrer les NaDES dans une formulation cosmétique. La biocompatibilité des NaDES permet de les inclure dans

une formulation cosmétique et ce qui représente une nouvelle stratégie pour l'écoconception de formulation [37,38]. Enfin, nous avons vérifié que les molécules bioactives extraites par les NaDES peuvent générer des effets bénéfiques dans un maquillage facial (peau, lèvre).

Afin de compléter les données, des tests de tolérance cutanée devront être envisagés. De même, des essais pour évaluer les activités anti-âge de la crème et des masques pourront être réalisés. Pour cela, il est possible de mesurer l'activité d'inhibition des formulations vis-à-vis des enzymes élastase, collagénase et hyaluronidase, mécanismes responsables de la perte d'élasticité et d'hydratation de la peau, lors du processus de vieillissement de la peau.

10. Partie expérimentale

10.1. Préparation de drêches de tomates

Les drêches de tomates fraîches fournies par la coopérative « Les Jus du Soleil » (Marmande, France) ont été séchées à 50°C pendant 8 heures pour obtenir une matière sèche dont le taux d'humidité est de 2%. Les drêches sèches ont été broyées avec un broyeur électrique pour obtenir des particules entre 1 et 2 mm (mesuré par microscopie optique, grossissement $\times 10$).



Figure III-6 : Drêches brutes broyées entre 1 et 2 mm

10.2. Méthodes d'extraction

10.2.1. Extraction avec le mélange Glycérol/Glucose

La préparation du DES « glycérol/glucose » a été adaptée des travaux de [Wils et al. \[31\]](#). Le glycérol et le glucose pesés sont mélangés dans un bécher de 100 mL, avec le rapport molaire (3:1) en ajoutant 30% d'eau, puis placé à 80°C pendant 2h sous agitation magnétique jusqu'à formation d'un liquide homogène. L'extraction de drêches est réalisée dans le mélange de glycérol et glucose. Brièvement, 2 g de drêches broyées sont mises en suspension dans 32 g du mélange glycérol/glucose, à 40°C pendant 2 h sous agitation. Une centrifugation (12 300 rpm, 20 min) permet de séparer les drêches du NaDES.

10.2.2. Extraction avec le mélange DL-menthol/Acide lactique

La préparation du DES « DL-menthol/acide lactique » (Men-Lac) a été adaptée des travaux de [Silva et al. \[14\]](#). Le DL-menthol solide (HBA) et le liquide acide lactique (HBD) pesés sont mélangés selon un rapport molaire (8:1) dans un bécher, chauffé sous agitation magnétique jusqu'à formation d'un liquide homogène. L'extraction est réalisée en mettant 3,4 g de drêches broyées dans 20 g du mélange Men-Lac, à 50°C pendant 1 h30 sous agitation. Après centrifugation (12 300 rpm, 20 min), l'extrait de couleur rouge intense est séparé des particules de drêches.

11.2.3. Extraction avec le mélange Acide lactique/Glucose

La préparation du DES « acide lactique/glucose » a été adaptée des travaux de [Fernandez et al. \[24\]](#). L'acide lactique et le glucose pesés selon le rapport molaire (5:1) sont mélangés avant l'addition de 15% d'eau. L'ensemble est mélangé à 50°C pendant 1 h sous agitation magnétique jusqu'à la formation d'un liquide homogène et transparent. Brièvement, 2 g de drêches sèches broyées sont mises en contact avec 40 ml du mélange « acide lactique/glucose » et homogénéisés par un vortex pendant 15 s. La suspension est soumise aux ultrasons (puissance 200 W, fréquence 20 kHz) à 40°C pendant 1 h. Puis le mélange a été centrifugé pendant 30 min pour séparer les particules de drêches.

11.2.4. Extraction avec le mélange L-Proline/Glycérol

La préparation du DES « L-proline et glycérol » a été adapté des travaux de [Wu et al. \[32\]](#). Les deux composés pesés sont mélangés selon le rapport molaire (1:2,5) avec 30% d'eau, puis l'ensemble est porté à 80°C sous agitation jusqu'à formation d'un liquide homogène et transparent. L'extraction des drêches est réalisée en plaçant 2 g de drêches broyées en contact avec 20 ml du mélange L-Proline/Glycérol, puis maintenues à 40°C pendant 1 h sous une puissance ultrasonique de 320 W. Après centrifugation à 10 000 rpm pendant 10 min, il est possible de séparer les particules de drêches.

10.3. Analyses infrarouges à transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres FTIR des NaDES ont été réalisés dans la gamme 600-4000 cm^{-1} avec un spectrophotomètre Perkin Elmer Spectrum 100 en utilisant un dispositif ATR. La ligne de base a été corrigée et l'absorbance a été normalisée entre 0 et 1.

10.4. Analyses thermiques

Les analyses ATG/ATD des NaDES ont été réalisées avec un équipement ATG/DSC 3+ (Mettler-Toledo) et les analyses de calorimétrie différentielle à balayage (DSC) avec un

équipement DSC Sirius (Netzsch). 10,5 mg de matière ont été prélevés et placés dans une nacelle d'aluminium. Le flux d'azote a été réglé à 50 ml/min, avec une montée en température de 10°C/min, entre 20 et 600 °C pour les thermogrammes et -100 et 20°C pour les calorimétries.

10.5. Analyse par chromatographie liquide haute pression (HPLC-DAD)

L'équipement comporte une pompe Thermo Fisher Scientific Spectra System C18 100 munie d'un détecteur PDA ACCELA. Les séparations ont été réalisées sur une colonne en phase inverse RPC18 (Phenomenex, Le Pecq, France) de 150 x 2,1 mm avec une granulométrie de 3 µm. L'élution a été réalisée à un débit de 1,2 mL/min, en utilisant une phase mobile constituée d'eau acidifiée à pH 2,6 (solvant A), et du mélange eau acidifiée : acétonitrile (20 : 80 v/v) (solvant B). Les échantillons ont été élués par le gradient suivant : de 12% B à 30% B pendant 15 minutes, de 30% B à 50% pendant 2 minutes, de 50% B à 99,9% B pendant 3 minutes et enfin de 99,9% B à 12% B pendant 10 minutes. Les échantillons ont été préparés en prélevant 0,5 mg de NaDES, dilué dans 1 mL d'acétonitrile, avant un passage à travers un filtre seringue Millex-HA 0,45 µm (Sigma Aldrich). 300 µL de chaque échantillon ont été injectés et la détection a été enregistrée à 280 nm. Les composés polyphénoliques et caroténoïdes ont été identifiés en comparant leurs temps de rétention (TR) et leurs spectres à ceux des standards.

10.6. Détermination de la composition

10.6.1. Teneur totale en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée selon la méthode au chlorure d'aluminium adaptée de [Quettier-Deleu et al. \[33\]](#) avec quelques modifications. 200 µl d'extraits et 800 µl d'éthanol ont été mis dans un flacon. 1 mL d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium (2%) a été ajouté puis sont mélangés avant une incubation à l'obscurité pendant 1 heure à température ambiante. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UVD 1800 (Shimadzu). Un blanc a été préparé de manière similaire en remplaçant la solution d'extrait par de l'éthanol avant la lecture des échantillons.

Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant la rutine comme étalon avec des concentrations comprises entre 0 et 35 µg/mL dans l'éthanol et 200 µl de chaque DES ont été ajoutés afin d'avoir le même rapport éthanol/DES. Des aliquotes de solution de rutine ont été mises en contact avec la solution de chlorure d'aluminium, avec le même protocole. La concentration en flavonoïdes est exprimée en milligrammes d'équivalent rutine (ER) par gramme de drèches. Les mesures ont été réalisées en triplicate.

10.6.2. Teneur totale en caroténoïdes

Un spectrophotomètre UV 1800 (Shimadzu) a été utilisé pour estimer la teneur totale en caroténoïdes à 446 nm dans une cellule en quartz avec une longueur de trajet de 1 cm. 0,1 g d'extrait séché a été dissous dans 50 ml d'éthanol avant passage aux ultrasons pendant 1 min. Les absorbances à 446 nm de solutions préparées avec une concentration comprise entre 1,04 et 26 µg/mL de β-carotène dans le DES 2 (DL-menthol/acide lactique) ont été mesurées et les valeurs obtenues ont été utilisées pour la courbe d'étalonnage. La teneur totale en caroténoïdes a été calculée en mg d'équivalent β-carotène par gramme de drêches. Les mesures ont été réalisées en triplicat.

10.6.3. Teneur totale en polyphénols

La teneur totale en polyphénols des extraits a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon [Papoutsis et al. \[34\]](#) avec quelques modifications. 60 µl de la solution d'extrait et 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu 10% (p/v) et 1040 µL de DES 3 (acide lactique/glucose) sont ajoutés à 800 µL d'une solution de carbonate de sodium (2%). Le mélange a été agité manuellement et incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 760 nm avec un spectrophotomètre UVD 1800 (Shimadzu). L'éthanol seul est utilisé comme blanc.

La courbe d'étalonnage a été réalisée avec des concentrations comprises entre 0 et 100 µg d'acide gallique/mL de DES 3. Les différentes solutions d'acide gallique ont été mélangées avec le réactif de Folin-Ciocalteu avec le même protocole que celui utilisé pour les extraits. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme de drêches. Les mesures ont été réalisées en triplicat.

10.7. Préparation des émulsions cosmétiques

10.7.1. Formulation du masque peel-off

L'extrait réalisé avec le glycérol/glucose est utilisé pour la formulation du masque peel off selon un protocole adapté de [Kulkarni et al. \[35\]](#). La composition en pourcentage massique est indiquée dans le **tableau III-9**. L'eau et le PVA ont été mélangés à 80°C sous agitation constante jusqu'à la formation d'un gel. Le mélange est refroidi à 40°C, puis le polyéthylène glycol 40 (PEG) et l'extrait sont ajoutés. Enfin, le monoglycéride de laurate, l'éthanol et le cosgard ont été ajoutés, sous une agitation vigoureuse maintenue pendant quelques minutes.

10.7.2. Formulation de baume à lèvres

L'extrait réalisé avec le DL-menthol/acide lactique est utilisé pour la formulation du baume à lèvres. La composition en pourcentage massique est indiquée dans le **tableau III-10**. La cire de Candelilla, la cire d'abeille, l'extrait, l'huile de coco fractionnée (caprylis) et l'huile de ricin sont mélangés dans un bécher et agités au bain-marie à environ 40°C jusqu'à la formation d'un gel. 7 gouttes d'un extrait de framboise ont été ajoutés.

10.7.3. Formulation de masque hydrosoluble

L'extrait réalisé avec l'acide lactique/glucose est utilisé pour la formulation du masque gel, en adaptant les travaux de Gupta [28]. La composition en pourcentage massique est indiquée dans le **tableau III-11**. Le xanthane, le glycérol et l'extrait ont été mélangés à température ambiante avant d'ajouter l'eau et le cosgard. La formulation est agitée mécaniquement pendant 15 min jusqu'à formation d'un gel homogène. 2 gouttes d'huile de cédrat peuvent être ajoutées.

10.7.4. Formulation de crème hydratante

L'extrait réalisé avec le NaDES glycérol/L-proline a été utilisé dans la formulation de la crème hydratante. La composition en pourcentage massique est indiquée dans le **tableau III-12**. Les phases aqueuse et huileuse sont préparées séparément. Pour former la phase aqueuse, l'eau, le NaDES et la gomme de xanthane ont été agités à 80°C jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. Par ailleurs, l'huile de jojoba, le laurate de glycérol, le beurre de karité et la cire de carnauba sont agités à 80°C jusqu'à homogénéisation. Les deux phases sont ensuite mélangées et agitées à 80°C pendant 10 min. Après ajout de l'amidon et l'éthanol, une agitation vigoureuse épaissit le milieu et conduit à l'émulsion finale.

Tableau III-14 : Identification de molécules dans les extraits de drêches par HPLC-DAD

N°	TR (min)	Composés	DES 1 (u.a.)	DES 2 (u.a.)	DES 3 (u.a.)	DES 4 (u.a.)
1	0,96	Acide gallique	-	30.36	193.31	-
2	2,21	(-)-Epicatechine (flavanol)	-	-	-	455.99
3	2,51	Méthyl 3,5-dihydroxy benzoate	-	17.92	-	-
4	2,70	Acide férulique	465.73	16.94	66.43	124.85
5	3,15	Acide caféique	158.67	-	-	285.79
6	3,65	Acide trans-3-hydroxycinnamic (acide chlorogénique)	-	27.48	71.98	-
7	3,85	Acide p-coumarique	212.78	-	-	-
8	5,43	Myricétine (flavonol)	236.96	12.99	44.62	199.72
9	6,21	6-hydroxycoumarine	105.77	6.15	45.13	-
10	9,18	Acide 2-Hydroxycinnamique	28.75	-	-	32.75
11	9,63	Quercétine (flavonol)	39.94	0.94	9.34	21.28
12	10,61	3,4-dihydroxy cinnamate	-	0.08	-	14.64
13	10,94	Acide <i>trans</i> -cinamique	-	0.39	-	-
14	11,17	3,4-dihydroxy-benzoic acid méthyl ester	-	-	-	81.60
15	11,77	Acide α -cyano-4-hydroxy cinnamique	144.19	4.73	37.02	-
16	12,66	Trolox (analogue de la vitamine E)	9.70	0.08	4.11	5.44
17	13,78	Kaempférol (flavonol)	0.39	0.06	3.30	3.30
18	14,68	3-Cyano-7-hydroxy-4-méthyl coumarine	-	0.33	3.78	-
19	14,99	Acide (+)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchromane-2-carboxylique	10.06	-	-	2.82
20	15,58	6-Hydroxyflavone	-	-	1.40	1.15
21	16,22	5,6,7- hydroxy flavone (Baicaléine)	0.92	0.04	0.11	-
22	18,1	7-Hydroxy-4-phenyl coumarine	-	0.31	-	-
23	18,53	3-Chloro-7-hydroxy-4-méthyl coumarine	31.69	1.31	-	-
24	18,70	5-hydroxy-4'-methoxyl flavone	14.86	-	15.66	42.77
25	19,61	7-Hydroxy flavone	-	0.18	-	-
26	19,79	β -carotène	9.20	24.5	7.32	-
27	19,81	Lutéine	0.08	11.08	7.28	-
28	20,28	4-Hydroxytamoxifène (deux isomères E et Z)	2.86	0.18	-	15.01
29	20,62	5,7-Dihydroxy-4-propyl coumarine	-	0.33	0.76	-
30	20,75	3'-hydroxy-6-méthyl flavone	3.22	-	-	-
31	20,99	5-Hydroxy flavone	-	-	-	0.13
32	21,12	Butyl 4-hydroxy benzoate	0.15	-	0.17	-
33	21,49	Benzyl 4-hydroxy benzoate	0.59	-	0.62	-
34	21,50	7-hydroxy-3',4',5'-triméthoxy- α -naphthoflavone	-	-	-	0.58
35	21,83	3,7-diméthoxyflavone	1.01	1,39	-	-

36	22	5-hydroxy-3'-methoxyflavone	-	-	1.20	-
37	22,03	5-hydroxy-4'-methoxyflavone	-	-	-	0.93
38	22,54	4',5'-dimethoxy-2'-hydroxy-4-methylchalcone	-	-	-	0.16
39	23,39	Hamamélitanin	5.24	5.06	-	-

Références bibliographiques

- [1] Soto ML, Parada M, Flaqué E, Dominguez H. Personal-care products formulated with natural antioxidant extracts. *Cosmetics*. 2018; 5: 13.
- [2] Barbulova A, Colucci G, Apone F. New trends in cosmetics: By-products of plant origin and their potential use as cosmetic active ingredients. *Cosmetics*. 2015; 2: 82-92.
- [3] Plainfossé H, Trinel M, Verger-Dubois G, Azoulay S, Burger P, Fernandez X. Valorisation of *Ribes nigrum* L. pomace, an agri-food by-Product to design a new cosmetic active. *Cosmetics*. 2020; 56: 1-16.
- [4] Carriço C, Ribeiro HM, Marto J. Converting cork by-products to ecofriendly cork bioactive ingredients: Novel pharmaceutical and cosmetics applications. *Industrial Crops and Products*. 2018; 125: 72-84.
- [5] Ijaz N, Durrani AI, Rubab S, Bahadur S. Formulation and characterization of Aloe vera gel and tomato powder containing cream. *Acta Ecologica Sinica*. 2022; 42: 34-42.
- [6] Sopyan I, Gozali D, Tiassetiana S. Formulation of tomato extracts (*Solanum lycopersicum* L.) as a sunscreen lotion. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 2017; 8: 453-458.
- [7] Salem Y, Rajha HN, Franjeh D, Hoss I, Manca ML, Manconi M, *et al.* Stability and antioxidant activity of hydro-glyceric extracts obtained from different grape seed varieties incorporated in cosmetic creams. *Antioxidants*. 2022; 11(7): 1348.
- [8] Huang Y, Feng F, Jiang J, Qiao Y, Wu T, Voglmeir J, Chen z. Green and efficient extraction of rutin from tartary buckwheat hull by using natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*. 2017; 221: 1400-1405.
- [9] Panic M, Gunjevic V, Cravotto G, Redovnikovic IR. Enabling technologies for the extraction of grape-pomace anthocyanins using natural deep eutectic solvents in up-to-half-litre batches extraction of grape-pomace anthocyanins using NADES. *Food Chemistry*. 2019; 300: 125185.
- [10] Li X, Row KH. Development of deep eutectic solvents applied in extraction and separation. *Journal of Separation Science*. 2016; 39: 3505-3520.
- [11] Dai Y, Spronsen JV, Witkamp GJ, Verpoorte R, Choi YH. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*. 2013; 766: 61-68.

- [12] Khandelwal S, Tailor YK, Kumar M. Deep eutectic solvents (DESs) as eco-friendly and sustainable solvent/catalyst systems in organic transformations. *Journal of Molecular Liquids*. 2016; 215: 345-386.
- [13] Popovic BM, Micic N, Potkonjak A, Blagojevic B, Pavlovic K, Milanov D *et al.* Novel extraction of polyphenols from sour cherry pomace using natural deep eutectic solvents – Ultrafast microwave-assisted NADES preparation and extraction. *Food chemistry*. 2022; 366: 130562.
- [14] Silva Y, Ferreira T, Jiao G, Brooks M. Sustainable approach for lycopene extraction from tomato processing by-product using hydrophobic eutectic solvents. *Association of Food Scientists & Technologists (India)*. 2019; 56: 1649–1654.
- [15] Lazzarini C, Casadei E, Valli E, Tura M, Ragni L, Bendini A *et al.* Sustainable Drying and Green Deep Eutectic Extraction of Carotenoids from Tomato Pomace. *Foods*. 2022; 11: 405.
- [16] Vorobyova V, Skiba M, Vasyliiev G. Valorization of tomato pomace: extraction of value-added components by deep eutectic solvents and their application in the formulation of cosmetic emulsions. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2022; 16: 1087–1104.
- [17] Vasyliiev G, Lyudmyla K, Hladun K, Skiba M, Vorobyova V. Valorization of tomato pomace: extraction of value-added components by deep eutectic solvents and their application in the formulation of cosmetic emulsions. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2022; 12: 95–11.
- [18] Santana APR, Mora-Vargas JA, Guimarães TGS, Amaral CDB, Oliveira A, Gonzalez MH. Sustainable synthesis of natural deep eutectic solvents (NADES) by different methods. *Journal of Molecular Liquids*. 2019; 293: 111452.
- [19] Ali HH, Ghareeb MM, Al-Remawi M, Al-Akayleh FT. New insight into single phase formation of capric acid/menthol eutectic mixtures by Fourier-transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2020; 19 (2): 361-369.
- [20] Ribeiro BD, Florindo C, Iff LC, Coelho M, Marrucho Ferreira IM. Menthol-based eutectic mixtures: hydrophobic low viscosity solvents. *ACS Sustainable Chemistry*. 2015; 3(10): 2469–2477.
- [21] Craveiro R, Aroso I, Flammia V, Carvalho T, Viciosa MT, Dionísi M *et al.* Properties and thermal behavior of natural deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*. 2016; 215: 534–540.

- [22] Delgado-Mellado N, Larriba M, Navarro P, Rigual V, Ayuso M, García J, Rodríguez F. Thermal stability of choline chloride deep eutectic solvents by TGA/FTIR-ATR analysis. *Journal of Molecular Liquids*. 2018; 260: 37-43.
- [23] Dai Y, Van Spronsen J, Witkamp G-J., Verpoorte R, Choi YH. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*. 2013; 766: 61-68.
- [24] Fernandez M, Espino M, Gomez F, Silva MF. Novel approaches mediated by tailor-made green solvents for the extraction of phenolic compounds from agro-food industrial by-products. *Food Chemistry*. 2018; 239: 671-678.
- [25] Zduńska K, Dana A, Kolodziejczak A, Rotsztejn H. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2018; 31: 332–336.
- [26] Lu Z, Wang J, Gao R, Ye F, Zhao G. Sustainable valorisation of tomato pomace: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*. 2019; 86: 172-187.
- [27] Costa A, Marques M, Congiu F, Paiva A, Simões P, Ferreira A *et al*. Evaluating the presence of lycopene-enriched extracts from tomato on topical emulsions: Physico-chemical characterization and sensory analysis. *Applied Sciences*. 2021; 11: 5120.
- [28] Gupta SK, Scottsdale AZ (US), Skin firming anti-aging cosmetic mask compositions. US2004/0161435 A1, 19 August, 2004.
- [29] Azmin S, Abidin Z, Sulaiman N, Nor M, Abdullah P. Evaluation of moisturizing lip balm comprise of natural pigment from tomato. *AIP Conference Proceedings*. 2022; 2454, 020028.
- [30] Syamsidi A, Syamsuddin AM, Sulastris E. Formulation and antioxidant activity of clay mask of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lycopene extract with variation of concentration of kaoline and bentonite bases. *Galenika Journal of Pharmacy*. 2021; 7(1): 77-90.
- [31] Wils L, Leman-Loubière C, Bellin N, Clément-Larosière B, Pinault M, Chevalier S *et al*. Natural deep eutectic solvent formulations for spirulina: Preparation, intensification, and skin impact. *Algal Research*. 2021; 26: 102317.
- [32] Wu L, Li L, Chen S, Wang L, Lin X. Deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* L. leaves: Optimization, comparison and antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*. 2020; 247: 117014.

- [33] Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000; 72: 35-42.
- [34] Papoutsis K, Vuong Q, Pristijono P, Golding JB, Bowyer MC, Scarlett CJ, Stathopoulos CE. Enhancing the Total Phenolic Content and Antioxidants of Lemon Pomace Aqueous Extracts by Applying UV-C Irradiation to the Dried Powder. *Foods*. 2016; 5: 55.
- [35] Kulkarni S, Gupta A, Bhawsar S. Formulation and evaluation of activated Charcoal peel off mask. *International Journal of Pharmacy Research & Technology*. 2018; 9: 44-48.
- [36] Ledoux F. Formulation des produits de maquillage. *L'actualité chimique*. 2008, n° 323-324, 99-115.
- [37] Journal officiel de l'Union européenne, Règlement (CE) No 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil. *Pharmacopée relative aux produits cosmétiques*. 30 novembre 2009.
- [38] L'Haridon J, Martz P, Chenèble JC, Champion JF and Colombe L, Ecodesign of cosmetic formulae: methodology and application. *International Journal of Cosmetic Science*. 2018; 40: 165–177.

Chapitre IV : Conception d'agromatériaux à base de drêches de tomate

1.	Introduction	112
2.	Analyse infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	113
3.	Composition chimique des drêches de tomates	114
4.	Obtention de matériaux par thermopressage	115
5.	Analyse thermogravimétrique (ATG) des drêches	116
6.	Choix des conditions pour le thermopressage	117
7.	Comparaison des propriétés des panneaux obtenus à partir des drêches brutes et des drêches traitées	118
8.	Étude des émissions en composés organiques volatils des panneaux à base de drêches.....	120
9.	Obtention des matériaux composites par mélange des drêches traitées dans des matrices thermoplastiques.....	124
9.1.	Choix des matrices et description de leur origine	124
9.2.	Analyse de la couleur des matériaux composites en fonction du taux de drêches	125
9.3.	Rhéologie en phase fondue des matériaux composites en fonction du taux de drêches	129
9.4.	Mesure de la densité des matériaux composites et déduction de leur porosité interne	132
10.	Propriétés physiques des composites à base de PCL et de PBS	135
10.1.	Dureté de surface Shore D des composites	135
10.2.	Analyses thermique et thermo-mécanique dynamique des composites à base de PCL et de PBS par DSC et par DMTA.....	137
11.	Conclusion générale	144
12.	Partie expérimentale	146
12.1.	Préparation de la matière première	146
12.2.	Analyses infrarouges à transformée de Fourier (FTIR)	146
12.3.	Méthodes analytiques.....	146
12.4.	Analyse thermogravimétrique (ATG)	146
12.5.	Thermopressage	147
12.6.	Fabrication des composites à base de PBS, de PCL et de PHB	147
12.7.	Détermination de la couleur des composites à base de PBS, de PCL et de PHB	149
12.8.	Mesure de l'épaisseur et de la densité.....	150
12.9.	Mesure de la dureté de surface Shore D.....	150
12.10.	Détermination des propriétés en flexion	151
12.11.	Absorption d'eau et gonflement en épaisseur	151
12.12.	Analyse thermique par calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	151
12.13.	Analyse thermo-mécanique dynamique (DMTA).....	152
12.14.	Étude qualitative des émissions de composés organiques volatils	153
	Références bibliographiques	156

1. Introduction

Les agromatériaux sont issus de co-produits d'origine agricole. Ils peuvent par exemple être utilisés pour des applications en construction. À titre d'exemple, selon l'Association des Industriels de la Construction Biosourcée (AICB), les produits végétaux fourniraient 10% des ventes d'isolants en France, ce qui représente encore un marché de niche. Une autre partie concerne les matériaux d'emballage, y compris pour des applications en agriculture (les films de paillage par exemple) ou les pièces d'usage unique (assiettes, couverts jetables, etc.). Compte-tenu des tensions sur les prix et sur les disponibilités des matières premières notamment celles d'origine fossile, il est important de pouvoir compter sur des filières d'approvisionnement local en matières premières biosourcées qui, de plus, génèrent de la valeur ajoutée aux productions agricoles.

Le développement des matériaux à partir de biopolymères apparaît comme l'un des moyens de valoriser certains co-produits de l'agriculture. Pour élaborer ces matériaux renouvelables, il faut mettre en œuvre des procédés adaptés au traitement des matières premières végétales, dans le respect de l'environnement. Ces matériaux d'origine naturelle peuvent conquérir des marchés dans les domaines de la construction, des transports et de l'emballage des produits alimentaires [1]. Des biocomposites sont également développés en associant un polymère de synthèse, souvent biosourcé ou biodégradable, avec des fibres végétales en guise de renfort mécanique. L'objectif est de diversifier l'origine des matières premières en fonction de leur disponibilité et de renforcer les propriétés mécaniques [2]. Actuellement, les activités de recherche se concentrent sur l'utilisation des fractions protéiques et lignocellulosiques disponibles à coûts modérés, en associant des procédés conformes à la chimie verte [3]. Ainsi, les travaux de [Uitterhaegen et al.](#) [4] ont montré que des tourteaux de coriandre pouvaient être utilisés pour la fabrication des panneaux cohésifs par thermopressage, évitant ainsi l'utilisation d'adhésifs chimiques.

Plus récemment, [Evon et al.](#) [5] ont montré que les tiges d'amarante pouvaient être utilisées pour produire des matériaux pour la construction. D'une part, l'écorce a été utilisée pour produire des panneaux durs par pressage hydraulique à chaud (20 MPa à 200°C). D'autre part, la moelle, située initialement au cœur de la tige, a été transformée en des blocs isolants, cohésifs et facilement usinables, par compression à température ambiante (9 kPa). [Evon et al.](#) [6] ont également mis au point des panneaux cohésifs avec des propriétés mécaniques intéressantes à partir d'anas issus de la paille de lin oléagineux. Faits de particules d'anas riches en cellulose et en lignines, ces panneaux de fibres ont eux aussi été obtenus par thermopressage. Par ailleurs, des films hydrophobes ont été formulés à partir des polyesters de la cutine présente dans les drêches de tomates : ils pourraient servir de revêtements ou de films d'emballage [7,8].

Ce quatrième chapitre décrit une nouvelle approche portant sur la conception d'agromatériaux à partir des drêches, qu'elles soient brutes ou traitées. Deux types de matériaux seront ainsi développés :

- Des panneaux durs obtenus par thermopressage des drêches brutes ou des drêches traitées.
- Des matériaux composites issus du mélange des drêches traitées dans trois différentes matrices thermoplastiques commerciales (PCL, polycaprolactone ; PBS, poly(butylène succinate) ; PHB, polyhydroxybutyrate).

Pour cela, ont été étudiées les conditions expérimentales pour mettre en œuvre (i) un procédé de thermopressage des drêches et (ii) un procédé de compoundage intégrant la dispersion d'une charge faite des drêches dans un bioplastique de synthèse préalablement fondu. Les propriétés des matériaux obtenus sont évaluées en terme de résistance mécanique et de sensibilité à l'eau.

2. Analyse infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Le spectre IR des drêches brutes présente les fonctions caractéristiques de biopolymères tels que les polysaccharides (celluloses, hémicellulose, pectines) et les polyesters. Les résultats obtenus sur les drêches brutes sont présentés dans le **tableau IV-1 (Annexe 1)**. Les bandes les plus intenses correspondent aux vibrations $\nu(\text{C}=\text{O})$ et $\nu(\text{C}-\text{O})$, groupements caractéristiques de ces molécules. La vibration $\nu(\text{C}=\text{C})$ est quant à elle attribuable à la présence de doubles liaisons sur les chaînes hydrocarbonées des acides gras insaturés. Ces doubles liaisons peuvent également provenir de la présence de caroténoïdes.

Tableau IV-1 : Analyses infrarouges de drêches brutes

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution	Fonctions chimiques	Molécules présentes dans les drêches	Références
3404	$\nu(\text{O}-\text{H})$	Alcool lié	Polysaccharides	Toscano et al. [9]
2960 2928 2857	$\nu(\text{C}-\text{H})$ pour CH_3 $\nu(\text{C}-\text{H})$ pour CH_2 $\nu(\text{C}-\text{H})$ pour CH	Chaîne hydrocarbonée	Lipides Polysaccharides	Manrich et al. [10]

1713	$\nu(\text{C=O})$	Ester conjugué, groupement acyle	Polyester (cutine) Hémicelluloses	Manrich et al. [10] Toscano et al. [9]
1639	$\nu(\text{C=C})$	Alcène	Acide gras insaturé, caroténoïdes, lignine	Toscano et al. [9]
1414	$\nu(\text{C-H})$	CH_2, CH_3	cellulose, hémicellulose	
1262	$\nu(\text{C-O})$	Ester	Pectine	Toscano et al. [9]
1201	$\nu(\text{C-OH})$	Alcool	Cellulose, hémicellulose	Manrich et al. [10]
1160	$\nu(\text{C-OH})$ $\nu(\text{C-O-C})$	Alcool Cycle des unités monosaccharidiques	Cellulose, hémicelluloses	Manrich et al. [10] Toscano et al. [9]
1031	$\nu(\text{C-OH})$ et $\nu(\text{C-O-C})$ $\nu(\text{CH}_2=)$	Idem Alcène	Cellulose Caroténoïdes	

3. Composition chimique des drêches de tomates

La matière première brute et les drêches traitées ont été analysées afin de déterminer leurs teneurs en matières minérales, en lipides résiduels et en extractibles à l'eau. La méthode NDF (pour Neutral Detergent Fiber) de [Van Soest et Wine \[11\]](#) permet de quantifier l'ensemble des constituants des parois cellulaires, à savoir la cellulose, les hémicelluloses et les lignines. La méthode ADF (pour Acid Detergent Fiber) de [Van Soest et Wine \[12\]](#) permet quant à elle d'accéder aux teneurs en cellulose et en lignines. Une attaque ADF à froid mettant en jeu une solution de permanganate de potassium permet dans un troisième temps d'accéder à la seule teneur en cellulose. Les résultats obtenus sur les drêches brutes et drêches traitées sont affichés dans le **tableau IV-2**. Pour les drêches en provenance du Lot-et-Garonne, la cellulose est le constituant majoritaire de la matière première. À l'inverse, [Chiou et al. \[13\]](#) avaient trouvé de façon surprenante que les drêches de Californie avaient une teneur en lignine élevée (57%). Des drêches de tomates collectées en Turquie ont révélé une abondance en hémicelluloses (57%) et une teneur en lipides relativement conséquente, égale à 16% [14]. Ces résultats montrent que la composition en polymères lignocellulosiques dépend de façon importante à la fois de la variété des plants et du

climat. Il est à noter que les drêches traitées (en milieu aqueux oxydant tamponné à 90°C) ont une teneur en constituants pariétaux (cellulose, hémicelluloses et lignines) plus élevée que les drêches brutes. Logiquement, la teneur en hydrosolubles diminue de 33% à 22%, suite au traitement en milieu aqueux. La revue de [Tajuddin et al. \[15\]](#) indique le rôle important de la cellulose comme renfort mécanique à l'intérieur des matériaux biosourcés alors que les hémicelluloses et les sucres libres peuvent être utilisés comme des liants internes, contribuant à une meilleure cohésion du matériau. Telles que présentées dans le **tableau IV-2**, les compositions chimiques des drêches brutes et des drêches traitées laissent donc penser qu'il pourrait s'agir de matières premières de choix pour l'obtention de panneaux 100% biosourcés par pressage à chaud.

Tableau IV-2 : Composition chimique de la matière première brute et des drêches traitées (MS, matière sèche)

	Drêches brutes	Drêches traitées
Humidité (%)	8,2 ± 0,2	7,9 ± 0,1
Matières minérales (% MS)	5,5 ± 0,2	5,2 ± 0,1
Cellulose (% MS)	36,5 ± 0,1	43,4 ± 0,1
Hémicelluloses (% MS)	8,3 ± 1,8	12,2 ± 2,3
Lignines (% MS)	5,3 ± 0,1	6,8 ± 0,3
Lipides (% MS)	7,7 ± 0,2	8,3 ± 0,2
Extractibles aqueux (% MS)	33,0 ± 0,1	22,0 ± 0,1

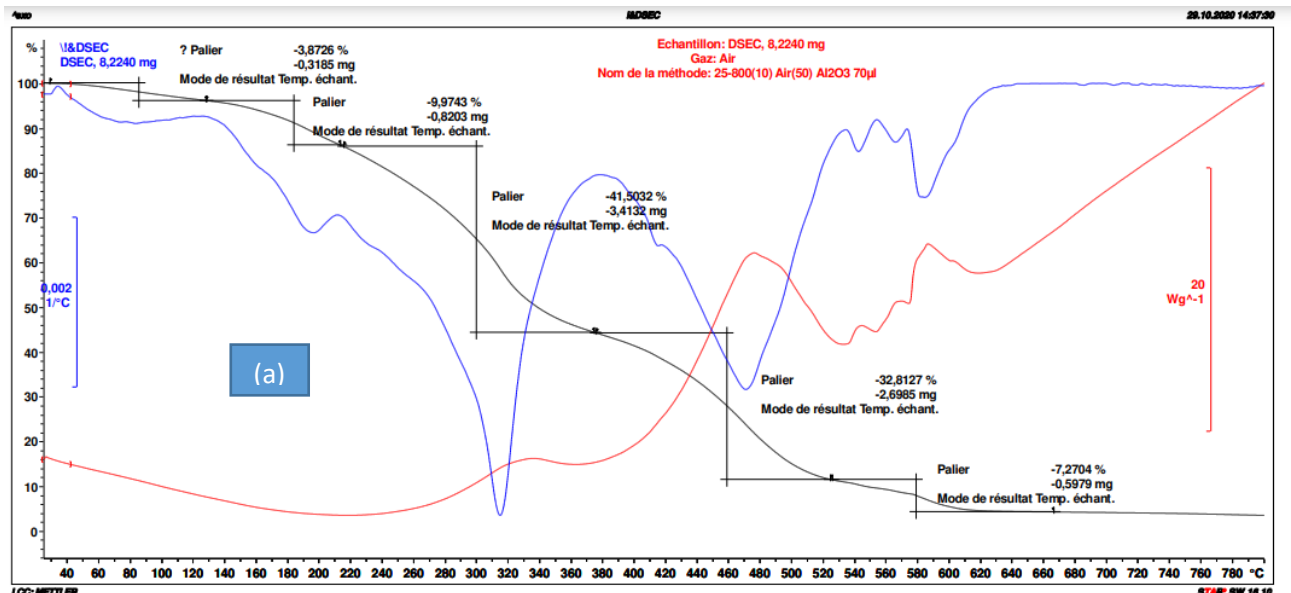
4. Obtention de matériaux par thermopressage

La conception des matériaux à partir de biomasses lignocellulosiques issues de co-produits de l'industrie agricole implique l'utilisation de procédés adaptés. Le thermopressage est un procédé largement utilisé pour fabriquer des matériaux naturels [16,17]. Il consiste à soumettre la matière à une pression et à une température inférieure à la température de dégradation des constituants. Pour cela, le matériel est placé sur la partie inférieure d'un moule chauffé. Puis, la partie supérieure se ferme, étalant ainsi la masse sur cette surface. Ce procédé a par exemple été appliqué à un tourteau issu des graines de coriandre pour la production de panneaux de fibres [4]. Ici, notre objectif est de réaliser une étude préliminaire visant à obtenir un matériau composé à

100% de drêches, sans ajout d'aucun liant exogène. Pour cela, il convient tout de même d'étudier la dégradation thermique des drêches afin de choisir convenablement la température qui sera mise en œuvre au moment du pressage à chaud.

5. Analyse thermogravimétrique (ATG) des drêches

Afin d'étudier le comportement de la matière première lors d'une augmentation de la température, une analyse thermogravimétrique sous air a été réalisée. Les thermogrammes sont présentés en **figure IV-1**, respectivement pour les drêches brutes et pour les drêches traitées. La perte de masse intervenant entre 100°C et 120°C correspond à l'évaporation de l'eau résiduelle. Puis, la décomposition thermique des composés organiques intervient en plusieurs étapes. La première phase, entre 170°C et 180°C, représente environ 10% de la masse initiale des drêches brutes et correspond vraisemblablement à la décomposition des sucres libres et des polysaccharides de plus faible poids moléculaire. La seconde phase, autour de 300°C (pic le long de la courbe DTG), correspond à la dégradation de la cellulose et des hémicelluloses. C'est entre 400°C et 500°C qu'intervient la décomposition des lignines et, de façon plus hypothétique, celle des lipides (environ 20% de la masse initiale des drêches). La masse résiduelle de 5% enregistrée en fin d'analyse représente quant à elle les matières minérales contenues dans l'échantillon analysé. Pour les drêches traitées, il semble que les différents constituants se dégradent principalement entre 250°C et 350°C.



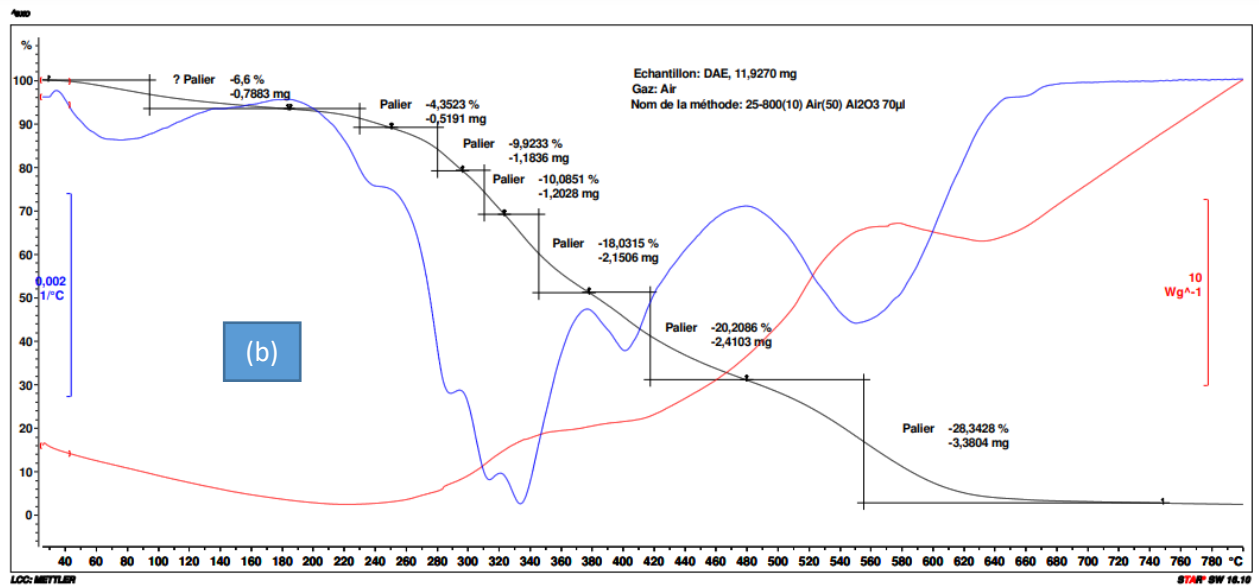


Figure IV-1 : Analyse thermogravimétrique sous air entre 30°C et 800°C des drêches brutes.

(a) et des drêches traitées (b). En noir : perte de masse en fonction de la température (courbe ATG) ; en bleu : dérivée de la courbe noire (courbe DTG) ; en rouge : variation d'enthalpie.

Ces analyses ATG montrent que pour une température inférieure à 220°C, la matière première ne subit pas de dégradation majeure. La température de transition vitreuse de la plupart des polymères naturels se situant autour de 140-145°C à leur humidité d'équilibre [15], nous choisirons donc de nous placer à une température de thermopressage comprise entre 150°C et 220°C.

6. Choix des conditions pour le thermopressage

Les drêches séchées à 60°C pendant 15 h sont thermopressées à trois températures différentes (180°C, 200°C et 220°C), et ce sous une pression de 20 MPa (équivalent à 204 kgf/cm²) appliquée pendant 150 s. Des panneaux de fibres cohésifs sont réalisés à partir de 150 g de drêches (figure IV-2). Plus la température du thermopressage est élevée, plus la couleur du panneau est foncée.



Figure IV-2 : Aspect des panneaux de fibres (carrés de 15 cm de côtés) fabriqués à partir des drêches brutes à 180°C et 200°C (de gauche à droite)

7. Comparaison des propriétés des panneaux obtenus à partir des drêches brutes et des drêches traitées

Les plaques obtenues ont montré une structure compacte, uniforme et cohésive, les rendant usinables à l'aide d'une scie à ruban. En effet, lors de la mise en forme, la cellulose et les hémicelluloses présents dans les drêches sont partiellement hydrolysés en sucres solubles simples qui contribuent à une auto-liaison, jouant le rôle des liants naturels responsables du mécanisme de liaison dans les panneaux de fibres, et ce sans la présence d'adhésifs synthétiques [15]. Les propriétés des panneaux sont présentées dans le **tableau IV-3**. La plaque obtenue à 200°C est plus foncée, plus dense et plus dure que celle obtenue à 180°C. Une température de mise en forme de 200°C est suffisante pour activer ces liants, aboutissant à la meilleure tenue mécanique [18]. Une amélioration de la tenue mécanique et de la tenue à l'eau a été rendue possible à 200°C. Plus la densité des panneaux est élevée, plus il y a une réduction de leurs porosités internes, les rendant moins sensibles à l'eau. Les propriétés en flexion des trois plaques n'en demeurent pas moins faibles, toujours inférieures à 10 MPa (1,1, 3,2 et 3,5 MPa respectivement), ce qui les rend inutilisables pour des usages en construction. À l'inverse, ces plaques pourraient servir à la fabrication de contenants intermédiaires, pour le transport et le conditionnement de fruits et de légumes par exemple, de telles utilisations ne nécessitant pas des propriétés mécaniques aussi élevées et de longues durées d'usage.

À la température de 220°C, le fluage de la matière lors du cycle de mise en forme indique l'amorçage de la dégradation de certains composés, les monosaccharides en particulier, comme l'indique l'analyse thermogravimétrique des drêches. Une température de 200°C, sous une pression proche de 21 MPa, a donc été considérée comme optimale pour la présente étude. Par

ailleurs, on observe que les propriétés de flexion et de dureté de surface (3,5 MPa pour la contrainte de rupture en flexion et 54,9° pour la dureté de surface Shore D) sont sensiblement améliorées avec les drêches traitées dont la teneur en lignocellulose est plus élevée (**tableau IV-2**). Le panneau associé présente également une tenue à l'eau légèrement améliorée lors des essais d'immersion. Il s'agit donc là d'une matière première à privilégier pour l'obtention de panneaux par thermopressage.

Tableau IV-3 : Comparaison des différentes propriétés des panneaux à base de drêches pressés à chaud à 180°C et 200°C

N° de plaque		1	2	3
Matière première		Drêches brutes	Drêches brutes	Drêches traitées
Température du moule lors de la mise en forme (°C)		180 °C	200 °C	200 °C
t (mm)	Épaisseur	5,7 ± 0,2	5,2 ± 0,1	5,5 ± 0,1
ρ (kg/m ³)	Densité	1089 ± 11	1146 ± 8	1106 ± 10
F (N)	Force de rupture lors des essais de flexion	8,2 ± 0,4	21,1 ± 2,8	27,5 ± 2,0
σ _f (MPa)	Contrainte de rupture en flexion	1,1 ± 0,2	3,2 ± 0,4	3,5 ± 0,3
E _f (MPa)	Module élastique en flexion	90 ± 7	457 ± 50	521 ± 40
Shore D (°)	Dureté de surface	40,7 ± 4,3	52,0 ± 2,8	54,9 ± 3,9
TS (%)	Gonflement en épaisseur après 24 h d'immersion dans l'eau	Plaque délitée (mesure impossible)	103,6 ± 10,3	68,9 ± 7,5
WA (%)	Absorption d'eau après immersion	Plaque délitée (mesure impossible)	107,7 ± 12,4	69,9 ± 6,1

8. Étude des émissions en composés organiques volatils des panneaux à base de drêches

Les composés organiques volatils recouvrent une grande variété de substances chimiques ayant pour point commun d'être composés de carbone et d'être volatils à température ambiante. Il existe plusieurs définitions des COV qui diffèrent selon les pays et les auteurs. Celle de la Directive Européenne du 11 mars 1999, relative à la réduction des émissions de COV dues à l'utilisation de solvants organiques dans certaines activités et installations [19], précise qu'il s'agit de « *tout composé organique ayant au moins une pression de vapeur de 0,01 kPa à une température de 293,15 K ou ayant une volatilité correspondante dans les conditions d'utilisation particulières* ».

Les COV atmosphériques sont présents aussi bien dans l'air intérieur des bâtiments que dans l'air extérieur. Ils ont de nombreuses sources naturelles et anthropiques. En effet, ils sont non seulement émis par la végétation, les forêts [20] mais également par les transports, le secteur de l'énergie ou celui des produits de commodité. L'utilisation de solvants organiques pour la fabrication de divers produits manufacturés (peintures, encres, revêtements, matériaux, etc.) est l'une des principales sources d'émission de COV selon les données du Centre interprofessionnel technique d'études de la pollution atmosphérique (CITEPA) [21].

Les COV peuvent être des polluants primaires mais également être à l'origine de la formation de polluants secondaires tels que l'ozone troposphérique. Ce dernier est un oxydant puissant et un gaz à effet de serre. Les COV peuvent donc avoir des impacts directs et indirects sur les êtres vivants et l'environnement. Les effets sur la santé humaine dépendent de la durée et des doses d'exposition aux COV et à l'ozone généré.

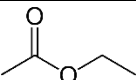
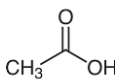
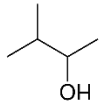
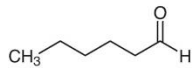
En France, depuis janvier 2012, les produits de décoration et de construction doivent obligatoirement comporter une étiquette indiquant leurs niveaux d'émission de COV dans les environnements intérieurs (cf. arrêté du 19 avril 2011 relatif à l'étiquetage des produits de construction ou de revêtement de mur ou de sol et des peintures et vernis sur leurs émissions de polluants volatils) [22]. Les émissions de COV d'un matériau font donc partie des critères à évaluer pour mesurer d'éventuels impacts environnementaux et sanitaires. Ainsi, un matériau, même d'origine biosourcée, peut être à l'origine de l'émission de molécules volatiles dont il faut tenir compte pour son utilisation, en particulier pour des applications en construction ou pour un usage de matériau d'emballage avec un possible contact alimentaire. A titre d'exemple, même les matériaux en bois utilisés pour la construction émettent des aldéhydes et des terpènes [23, 24, 25, 26].

Les matériaux préparés avec les drêches dégagent une odeur caractéristique dont certaines notes sont décrites par [Mildner-Szkudlarz et al. \[27\]](#), à partir de l'identification des COV émis par un tourteau de graines après cuisson. Ainsi, les notes issues des drêches thermopressées s'apparentent à des senteurs végétales et herbales (dues notamment aux aldéhydes aliphatiques) ainsi qu'à des notes pyrogénées (odeurs de grillé, de graines et de caramel, etc.), associées aux dérivés furaniques et de pyrazines. De leur côté, [Du et al. \[28\]](#) avaient identifié l'hexanal parmi les composés volatils émis par les tomates fraîches. L'hexanal est un composé très souvent décrit pour son odeur fruitée, herbale, associée à des notes « grasse ».

Cette partie du travail vise à étudier les émissions en composés organiques volatils émis par les panneaux 100% à base de drêches. Certains COV sont, en effet, connus pour leur bioactivité pourrait ainsi être avantageusement mise à profit. Nous devons également vérifier si ces COV ne présentent pas d'incompatibilité par rapport au transport ou stockage de denrées alimentaires.

Le **tableau IV-4** mentionne les principaux composés volatils identifiés dans les émissions dues aux panneaux faits de drêches brutes ou de drêches traitées. Dans ce tableau, on observe que la composition qualitative diffère entre les deux types de panneaux. L'acide acétique, le 3-méthyl-2-butanol, l'hexanal, le 3-(2H) furanone dihydro-2-méthyl, le 2-furfural, le 2-acétylfurane, le 5-méthylfurfural et le nonanal sont des composés communs aux deux types de panneaux. Les drêches brutes émettent spécifiquement les composés suivants : le 2-furane méthanol, l'acétate de furfuryle, la 2-éthyl-3-méthylpyrazine et la 2-éthyl-5-méthylpyrazine. Les drêches traitées émettent spécifiquement l'acétate d'éthyle, le 3-furfural, l'heptanal, l'acide butanoïque, le 2-pentylfuran, le décane et le dodécane.

Tableau IV-4 : Principaux composés volatils identifiés provenant des panneaux à base des drêches brutes et traitées

Composés	Formules	CAS	IR lit	IR exp	Drêches brutes	Drêches traitées
Acétate d'éthyle		141-78-6	606 ²⁹	600	n.d.	*
Acide acétique		64-19-7	609 ²⁷	615	*	*
3-méthyl-2-butanol		598-75-4	671 ²⁹	678	*	*
Hexanal		66-25-1	801 ²⁹	800	*	*

2-méthyltetrahydrofuran-3-one		3188-00-9	817 ³⁰	811	*	*
2-furfural		98-01-1	845 ³²	845	*	*
3-furfural		498-60-2	845 ³²	855	n.d.	*
2-furane méthanol		98-00-0	880 ³⁰	890	*	n.d.
Heptanal		111-71-7	901 ²⁹	906	n.d.	*
2-acétylfurane		1192-62-7	927 ³¹	932	*	*
Acide 4-hydroxy butanoïque		591-81-1	933 ³³	932	n.d.	*
5-méthylfurfural		620-02-0	980 ³⁰	981	*	*
2-pentylfurane		3777-69-3	995 ³⁰	994	n.d.	*
Décane		124-18-5	1000 ²⁹	1000	n.d.	*
Acétate de furfuryle		623-17-6	1004 ³²	1008	*	n.d.
2-éthyl-3-méthylpyrazine		15707-23-0	1002 ²⁹	1009	*	n.d.
2-éthyl-5-méthylpyrazine		13360-64-0	1019 ³⁰	1016	*	n.d.
Nonanal		124-19-6	1100 ²⁹	1118	*	*
Dodécane		112-40-3	1200 ²⁹	1200	n.d.	*

* : détecté, n.d. : non détecté.

Parmi les dix-neuf composés identifiés dans les plaques issues du thermopressage, on note la présence de douze composés carbonylés dont huit dérivés du furfural. Vraisemblablement formés lors de la mise en forme, ces composés proviennent de la dégradation thermique des acides aminés, des glucides ou des acides gras polyinsaturés. Ils sont généralement présents dans les matières premières torréfiées [27]. Les dérivés des pyrazines ainsi que les dérivés furaniques proviennent de la dégradation des sucres et contribuent aux arômes caractéristiques qui se dégagent des plaques obtenues [34]. Certains aldéhydes tels que le n-hexanal, n-heptanal et n-octanal proviennent de l'oxydation des lipides (en particulier de l'acide oléique et acide palmitoléique) [35]. Signalons ici que certaines pyrazines sont des composés clés de l'arôme des vins. Quant aux

acides organiques également détectés, ils proviennent des réactions de Maillard pouvant se produire lors du thermopressage.

Parmi les composés volatils émis par les panneaux de drêches, certains d'entre eux disposent de bioactivités reconnues et qui sont d'ores et déjà mentionnées dans la littérature scientifique. L'**acide acétique**, introduit dans des formulations en association avec d'autres molécules, permet de lutter contre la formation de certaines colonies bactériennes, pour prolonger la durée de conservation du riz cuit [36] ou pour limiter le développement de moisissures par fumigation sur les arbres fruitiers [37]. Le **3-méthyl-2-butanol**, issu de l'huile de l'écorce de *Gliricidia Sepium*, a montré une activité inhibitrice contre de nombreuses bactéries [38]. [Alizadeh et al.](#) [39] ont rassemblé les travaux relatifs aux **furanes** substitués d'origine naturelle, montrant leur rôle non négligeable dans diverses propriétés biologiques (activités antioxydantes, antimicrobiennes ou antiinflammatoires). En particulier, le **furfural**, l'**alcool furfurylique** et l'**acide furoïque** ont montré un large spectre d'activités antibactériennes. Ils sont aujourd'hui notamment utilisés pour le développement de nouveaux bioinsecticides [40]. Par ailleurs, un traitement par fumigation d'une solution de **2-éthyl-5-méthylpyrazine** réduit l'attaque bactérienne sur les mangues après leur récolte [41]. [Song et al.](#) [42] ont également montré que les propriétés antifongiques de l'**hexanal**, souvent présent dans les fractions volatiles émises par les matières premières d'origine végétale, permettent de prolonger la conservation des myrtilles après récolte. Des aldéhydes tels que le nonanal, présent dans la fraction volatile des extraits éthanoliques de cires d'abeille, ont eux aussi été identifiés pour leur contribution à l'activité antibactérienne des extraits [43]. Enfin, [Germinara et al.](#) [44] ont montré que le **furfural** et certains aldéhydes aliphatiques avaient la capacité de modifier l'orientation olfactive des insectes. Ils pourraient ainsi être utilisés comme un répulsif naturel.

L'ensemble de ces données issues de la littérature scientifique montre que les aldéhydes et les composés furaniques détectés dans les fractions volatiles de matériels végétaux sont souvent associés à une activité antimicrobienne voire répulsive pour les insectes. Le furfural et certains aldéhydes sont listés dans la base de données de la Food and Drug Administration (FDA) américaine comme des additifs alimentaires autorisés (EAFUS, Everything Added to Food in the United States). Ils sont d'ailleurs fréquemment utilisés pour produire des notes aromatiques pour l'industrie alimentaire.

Ces multiples propriétés sont intéressantes et compatibles avec le conditionnement d'aliments. Ainsi, dans notre cas, un contenant à base de drêches thermopressées pourrait de toute

évidence contribuer à améliorer la conservation des fruits ou des légumes au cours de leur transport ou lors de leur stockage, avant acheminement vers leur lieu de vente.

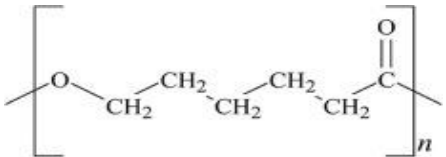
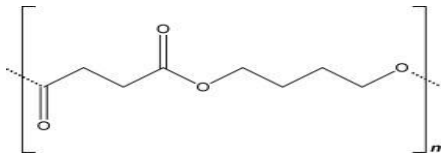
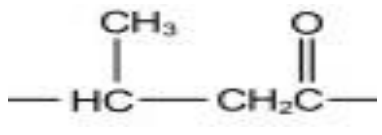
9. Obtention des matériaux composites par mélange des drêches traitées dans des matrices thermoplastiques

9.1. Choix des matrices et description de leur origine

Une autre valorisation des drêches de tomates dans le domaine des matériaux pourrait être leur utilisation en tant que charges de renfort dans des matrices plastiques. Pour cette partie de l'étude, trois matrices bioplastiques ont ainsi été sélectionnées : le PBS (polybutylène succinate), la PCL (polycaprolactone) et le PHB (polyhydroxybutyrate). Il s'agit là de trois biopolyesters disponibles sur le marché et également biodégradables en fin de vie. Le polybutylène succinate (PBS) est un thermoplastique biodégradable semi-cristallin et flexible. Ses deux éléments constitutifs (le 1,4-butanediol et l'acide succinique) peuvent être produits à partir de matières premières renouvelables telles que l'amidon (principalement celui issu du maïs), le glucose et le saccharose, par fermentation. La poly(ϵ -caprolactone) (PCL) est un thermoplastique biodégradable d'origine fossile et qui est généralement produit par polymérisation après ouverture de cycle de la ϵ -caprolactone. Le polyhydroxybutyrate (PHB) est quant à lui un thermoplastique biosourcé et biodégradable synthétisé par certains micro-organismes sous forme de réserves d'énergie et de carbone [45]. Ces trois biopolymères ont des points de fusion très différents (**tableau IV-5**).

Dans l'étude qui va suivre, des matériaux biocomposites associant l'une de ces matrices aux drêches préalablement traitées seront fabriqués puis analysés. Les drêches, utilisées ici comme charge de renfort, seront incorporées à différents taux massiques : 0, 5, 10, 15, 20 et 25 %. Les matériaux biocomposites sont produits en phase fondue à l'aide d'un micro-compoundeur de type Thermo Scientific Haake (Allemagne) MiniLab, à des températures égales à 65°C, 100°C et 170°C, respectivement, pour la PCL, le PBS et le PHB. Fort logiquement, ces températures ont été choisies légèrement supérieures aux températures de fusion des trois matrices bioplastiques considérées (**tableau IV-4**) afin que la dispersion des drêches puisse s'effectuer efficacement dans une matrice polymère fondue.

Tableau IV-5 : Principales caractéristiques des trois matrices bioplastiques utilisées

Matrice bioplastique commerciale	Température de fusion	Refroidissement	Densité	Formule semi-développée
PCL (grade CAPA 6250 de polycaprolactone de la société Perstorp)	65 °C	40 °C	1,10 mg/mm ³	
PBS (grade PBE001 de polybutylène succinate de la société NaturePlast)	100 °C	50 °C	1,24 mg/mm ³	
PHB (grade P209 de polyhydroxybutyrate de la société Biomer)	170 °C	80 °C	1,23 mg/mm ³	

9.2. Analyse de la couleur des matériaux composites en fonction du taux de drêches

Une fois obtenus, des analyses colorimétriques ont d'abord été réalisées sur les différents matériaux composites à base de PBS, de PCL et de PHB en mélange avec différents taux massiques de drêches (0, 5, 10, 15, 20 et 25%) (**figure IV-3**). Pour cela, les mesures de couleur ont été effectuées dans l'espace chromatique CIE L*a*b*. Cette mesure de couleur permet de contrôler, au moins de manière qualitative, l'incorporation effective des drêches traitées, et ce à des taux croissants. Nos résultats montrent globalement des valeurs décroissantes de la clarté L* et donc une augmentation progressive de ΔL^* (défini comme la différence entre la clarté de la matrice seule et celle du composite) avec le taux de drêches, et ce pour les trois matrices testées (**figure IV-4**, **figure IV-5** et **figure IV-6**). Ceci indique que les composites deviennent de plus en plus sombres en même temps que la proportion de drêches augmente, comme le montrent visuellement les trois photographies de la **figure IV-3**. En ce qui concerne la différence de couleur par rapport à la matrice bioplastique seule (ΔE^*), les résultats montrent que celle-ci tend à augmenter, et ce d'une façon quasi-linéaire, avec l'augmentation du taux massique de drêches, constituant un moyen facilement accessible de contrôle de la qualité du biocomposite produit. Cette évolution quasi-linéaire est effectivement la confirmation que la quantité souhaitée de drêches a bien été ajoutée dans la matrice bioplastique considérée.

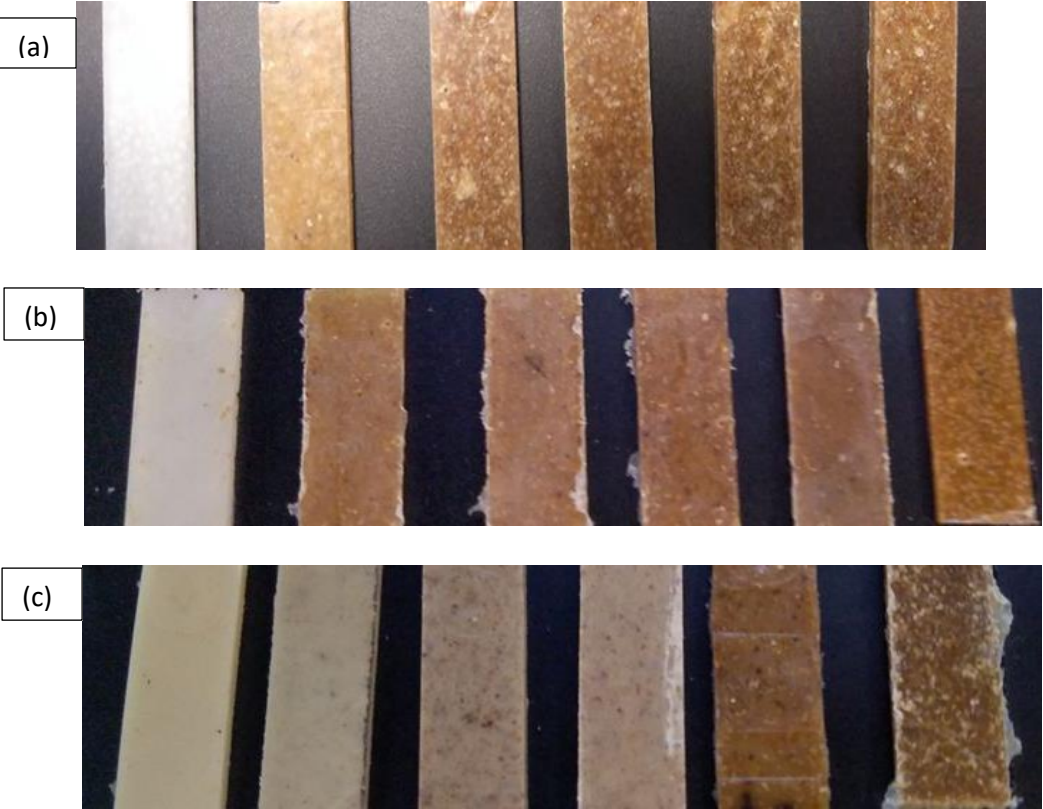
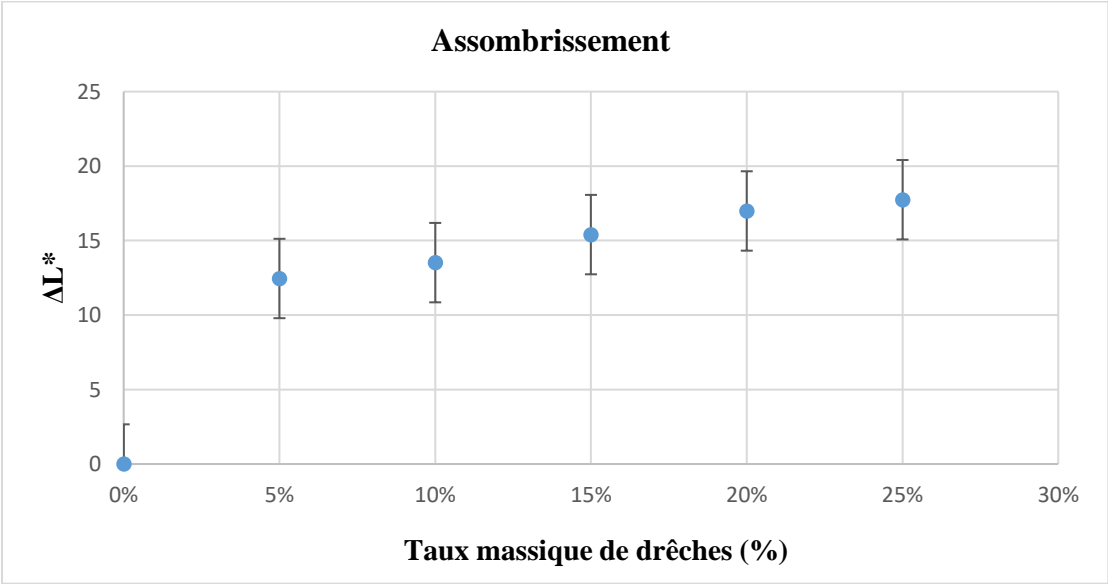


Figure IV-3 : Photos des composites à base de (a) PCL, (b) PBS et (c) PHB



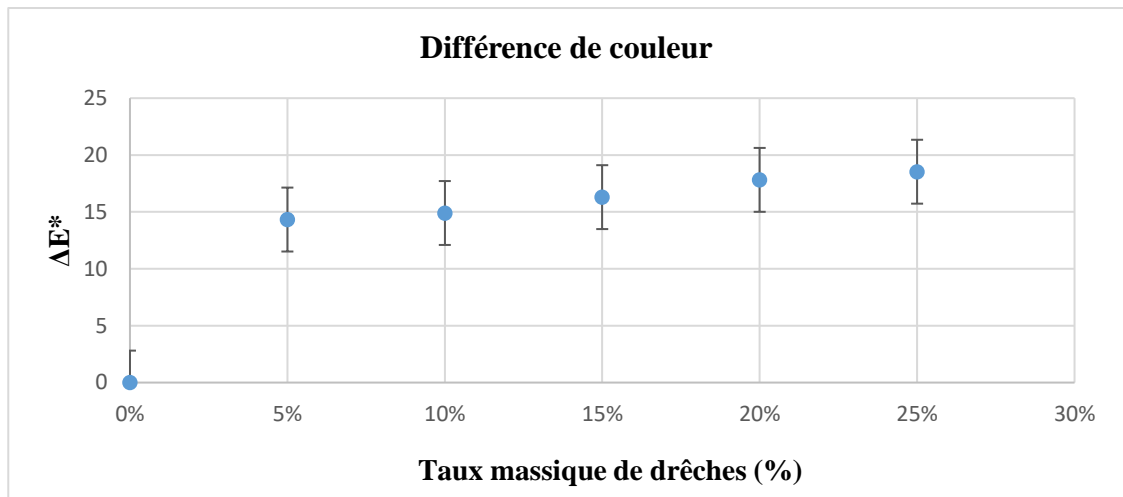
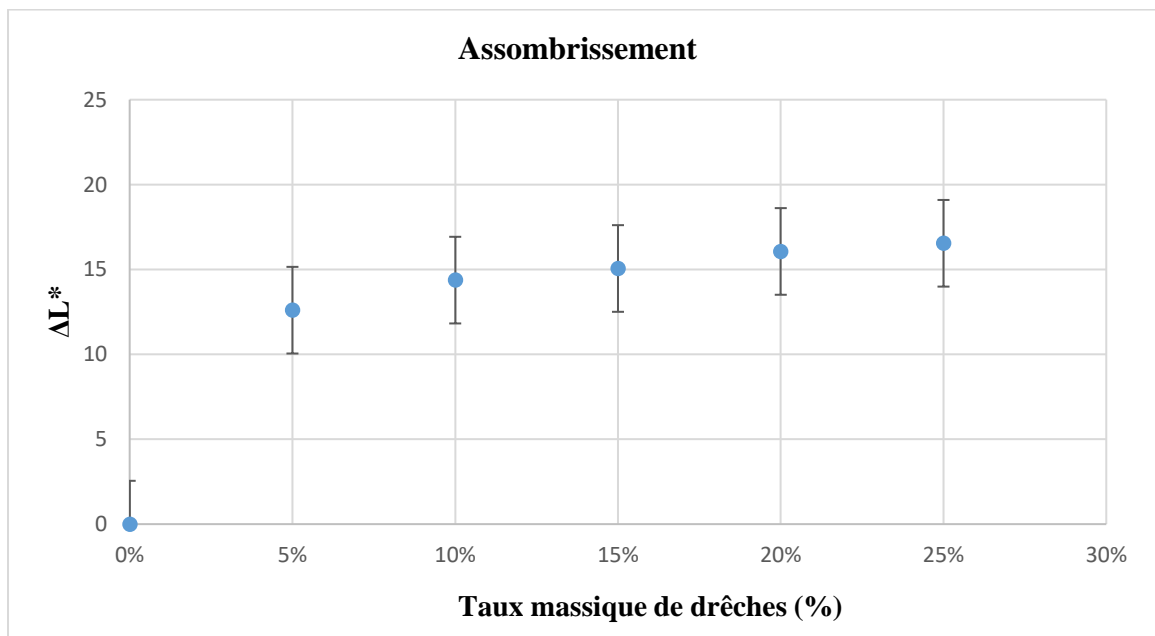


Figure IV-4 : Analyse colorimétrique des six composites à base du PBS en fonction du taux massique de drêches (0, 5, 10, 15, 20 et 25 %)



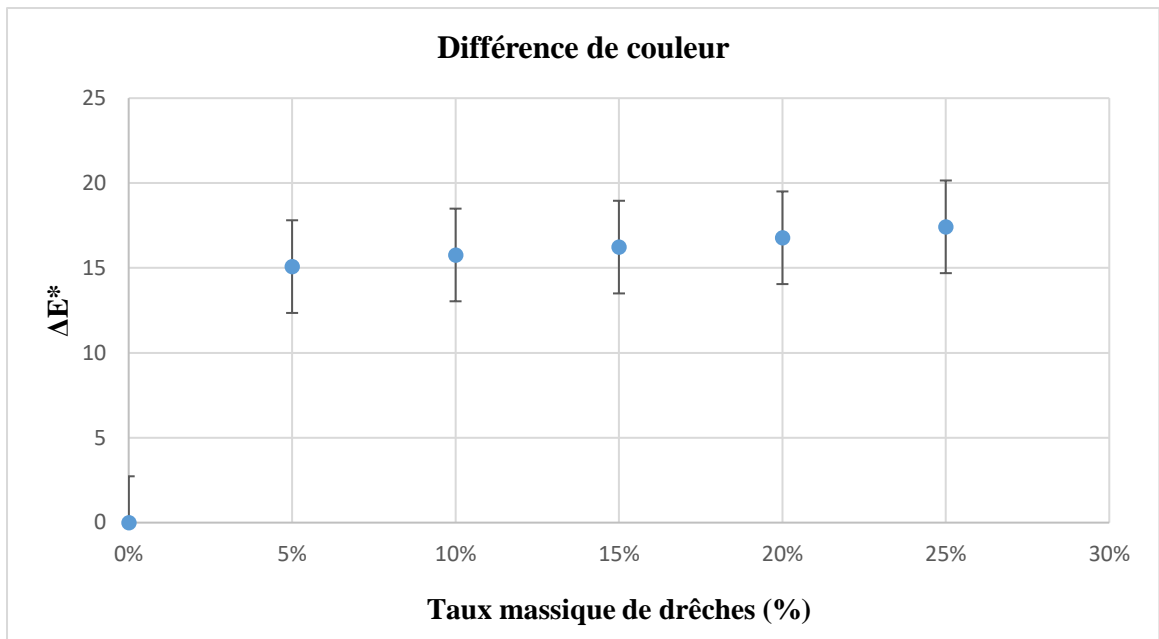
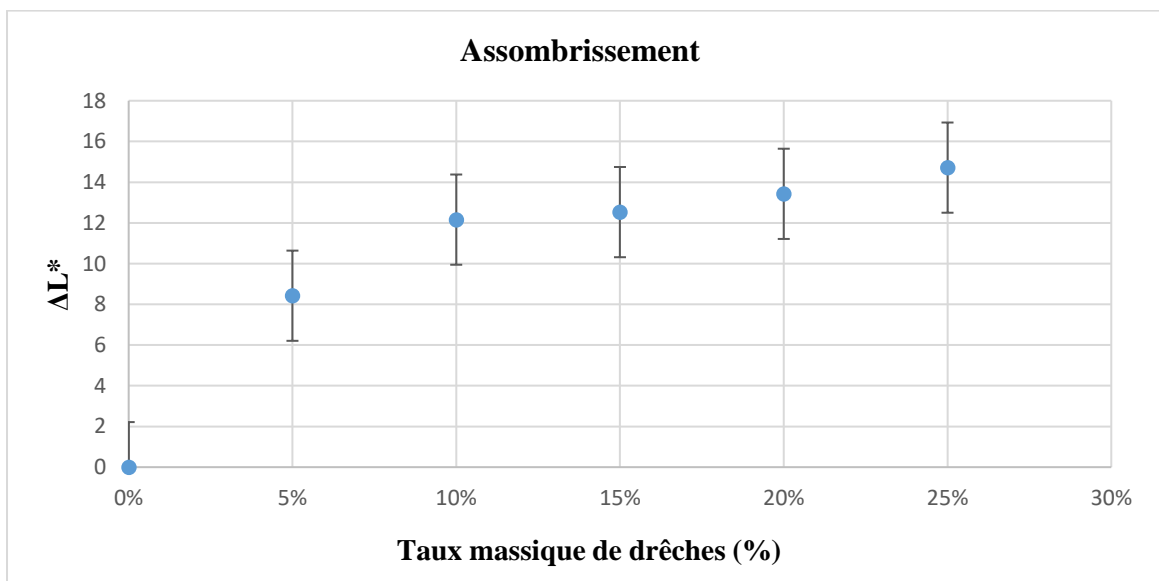


Figure IV-5 : Analyse colorimétrique des six composites à base du PCL en fonction du taux massique de drêches (0, 5, 10, 15, 20 et 25 %)



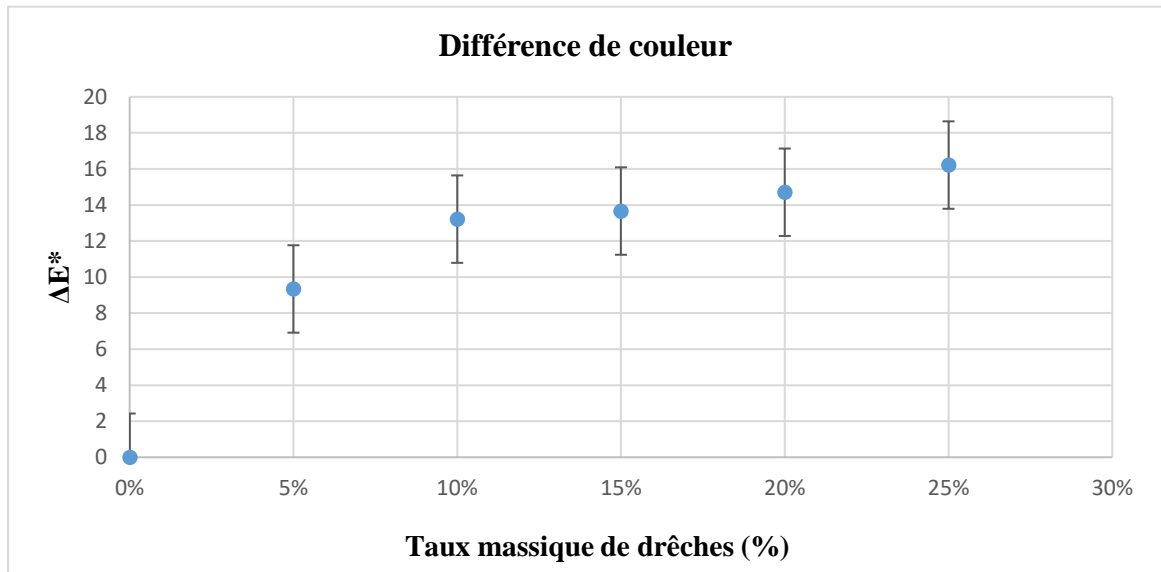


Figure IV-6 : Analyse colorimétrique des six composites à base du PHB en fonction du taux massique de drêches (0, 5, 10, 15, 20 et 25 %)

9.3. Rhéologie en phase fondue des matériaux composites en fonction du taux de drêches

Outre l'obtention d'une éprouvette en fin de compoundage, le micro-compoundeur MiniLab permet également une mesure de rhéologie en phase fondue des mélanges polymère/charge lors de leur préparation. La mesure de viscosité apparente du mélange biocomposite fondu peut en effet être répétée pour différentes valeurs de taux de cisaillement grâce à l'augmentation progressive de la vitesse de rotation des vis de l'appareil.

Des études rhéologiques ont ainsi été réalisées sur les composites à base de PHB, de PCL et de PBS, et ce pour les différents taux de drêches testés (0, 5, 10, 15, 20 et 25%). La **figure IV-7**, la **figure IV-8** et la **figure IV-9** montrent l'évolution de la viscosité apparente en fonction du taux de cisaillement appliqué pour les différents composites produits. Celle-ci diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement mécanique appliqué, et ce quelle que soit la formulation considérée, traduisant le comportement rhéofluidifiant à la fois du polymère seul et du composite polymère/drêche. Pour une même matrice bioplastique et pour les valeurs de taux de cisaillement les plus élevées, il est d'ailleurs important de noter que les courbes rhéologiques tendent toutes à se rapprocher les unes des autres, ce qui signifie que la viscosité apparente du composite devient alors relativement indépendante de son taux massique de drêches.

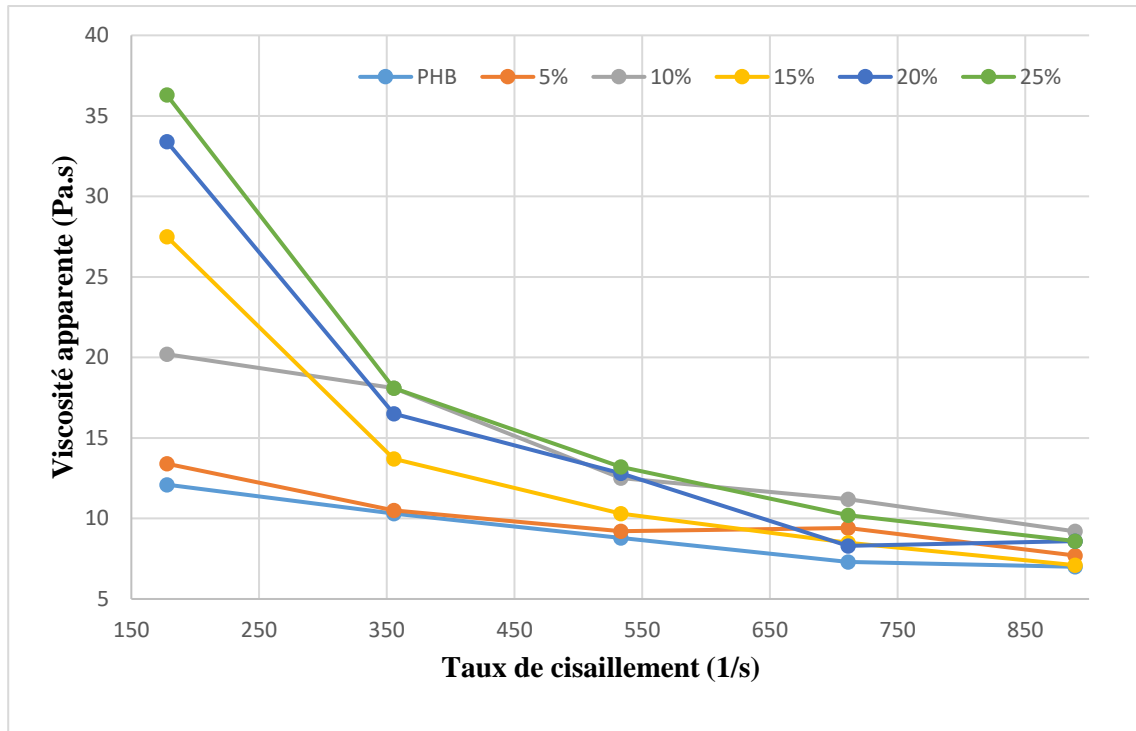


Figure IV-7 : Évolution de la viscosité apparente à 170°C en fonction du taux de cisaillement appliqué et du taux de drêches pour les composite à base de PHB

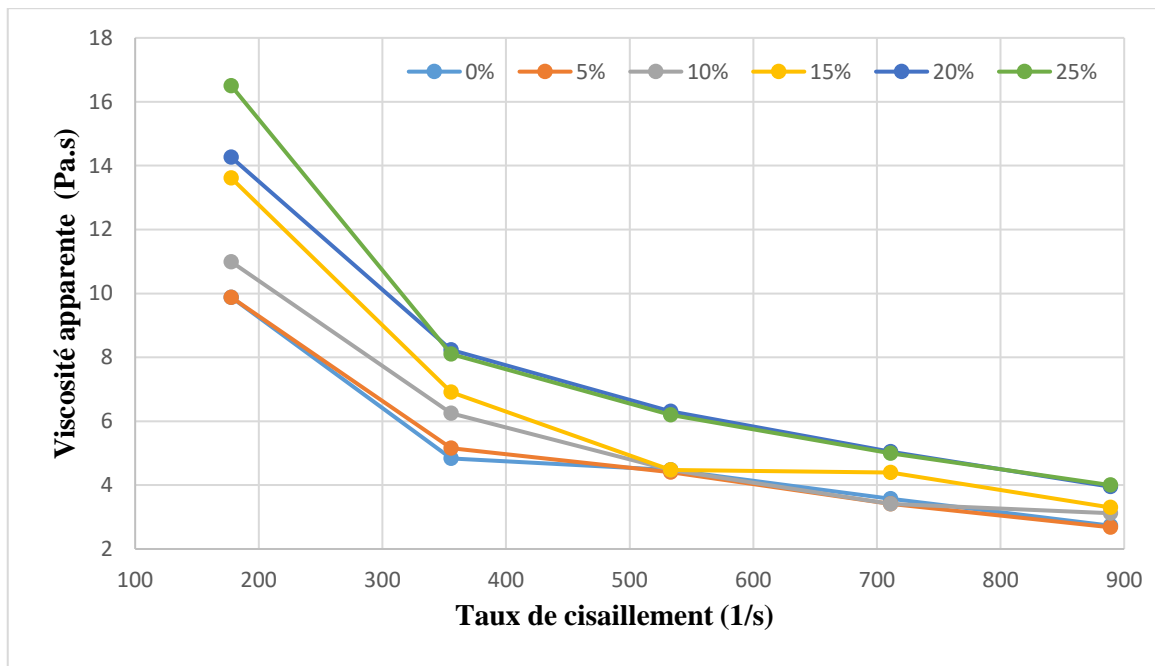


Figure IV-8 : Évolution de la viscosité apparente à 65°C en fonction du taux de cisaillement appliqué et du taux de drêches pour les composites à base de PCL

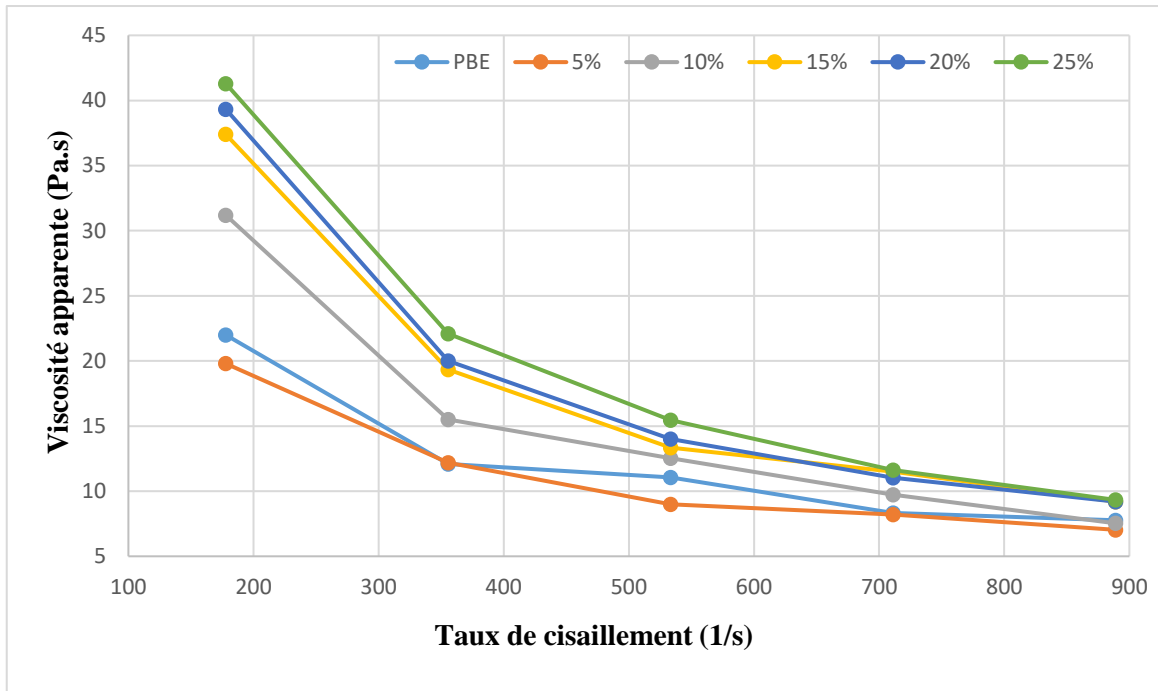


Figure IV-9 : Évolution de la viscosité apparente à 100°C en fonction du taux de cisaillement appliqué et du taux de drêches pour les composites à base de PBS

Pour chaque matrice bioplastique considérée, les courbes d'écoulement obtenues montrent globalement une augmentation de la viscosité apparente au fur et à mesure que le taux de drêches augmente à l'intérieur du mélange, et ce quel que soit le taux de cisaillement appliqué. Cet effet d'augmentation de la rhéologie du mélange en présence des drêches est caractéristique de leur comportement de charge de renfort, les particules de drêches limitant la mobilité des chaînes du plastique biosourcé les unes par rapport aux autres dans leur état fondu. Par ailleurs, la viscosité apparente de toutes les formulations produites respecte la loi d'Ostwald et de Waele. Les valeurs de m (indice de pseudoplasticité) et de K (consistance) ont ainsi pu être calculées pour toutes les formulations. Le **tableau IV-6**, le **tableau IV-7** et le **tableau IV-8** ci-dessous montrent leur variation en fonction du taux de drêches ainsi que les coefficients de corrélation (R^2) associés. Avec l'augmentation de ce taux massique, les valeurs de m tendent à diminuer en même temps que celles de K tendent à augmenter, et ce pour les trois matrices testées. Cela traduit un mélange fondu qui devient de plus en plus visqueux, les chaînes polymères voyant leur mobilité progressivement se réduire et leur niveau d'enchevêtrement entre elles dans le même temps augmenter. Il y a donc bien un effet de charge de renfort joué par les drêches vis-à-vis des trois polymères testés dans leur état fondu.

Tableau IV-6 : Variation de m et K à 170°C en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PHB, et coefficient de corrélation R^2 associé au modèle linéaire de la loi-puissance d'Ostwald et de Waele

Taux des drêches	0%	5%	10%	15%	20%	25%
m	0,6413	0,6876	0,5012	0,1667	0,1117	0,1054
K (Pa.s^m)	81	67	291	1988	3225	3633
R²	0,96	0,94	0,92	0,99	0,97	0,99

Tableau IV-7 : Variation de m et K à 100°C en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PBS, et coefficient de corrélation R^2 associé au modèle linéaire de la loi-puissance d'Ostwald et de Waele

Taux des drêches	0%	5%	10%	15%	20%	25%
m	0,3593	0,3581	0,1512	0,1380	0,0958	0,0791
K (Pa.s^m)	581	538	2468	3159	417	4922
R²	0,97	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

Tableau IV-8 : Variation de m et K à 65°C en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PCL, et coefficient de corrélation R^2 associé au modèle linéaire de la loi-puissance d'Ostwald et de Waele

Taux des drêches	0%	5%	10%	15%	20%	25%
m	0,2576	0,2259	0,1944	0,1547	0,2154	0,1375
K (Pa.s^m)	439	532	709	1031	845	1388
R²	0,96	0,98	0,99	0,98	0,99	0,99

9.4. Mesure de la densité des matériaux composites et déduction de leur porosité interne

La mesure de la densité a été réalisée sur les différents matériaux composites à base de PBS, de PCL et de PHB en mélange avec les drêches traitées, ajoutées aux différents taux massiques (0, 5, 10, 15, 20 et 25%). Pour les composites à base de PBS, comme le montre la **figure IV-10**, la densité augmente progressivement avec le taux de drêches, s'expliquant par la densité plus élevée des drêches ($1,37 \pm 0,01 \text{ mg/mm}^3$; mesure faite au pycnomètre dans le cyclohexane) par comparaison à celle du PBS ($1,24 \text{ mg/mm}^3$; **tableau IV-5**). À l'inverse, pour les composites à base de PHB, la densité diminue progressivement (**figure IV-12**). Pour les composites à base de

PCL, une diminution de la densité est également observée mais d'une manière bien moins significative et seulement à partir de 15% de taux de drêches (**figure IV-11**).

L'hypothèse la plus vraisemblable à la diminution de la densité des composites à base de PHB pourrait être attribuée au fait que la température de fusion plus élevée du PHB (170°C) conduirait à une dégradation (décomposition thermique), même partielle, des drêches lors de l'opération de compoundage. L'analyse thermogravimétrique pratiquée sur les drêches (**figure IV-1**) fait effectivement apparaître une perte de masse en matières organiques, bien que légère, pour des températures inférieures à 200°C. Les gaz de combustion associés à cette dégradation (vapeur d'eau, dioxyde de carbone, oxydes d'azote, etc.) ne pouvant s'échapper du matériau composite au moment de son refroidissement, cela conduirait à l'apparition de porosités en son sein, responsables de la chute observée des densités.

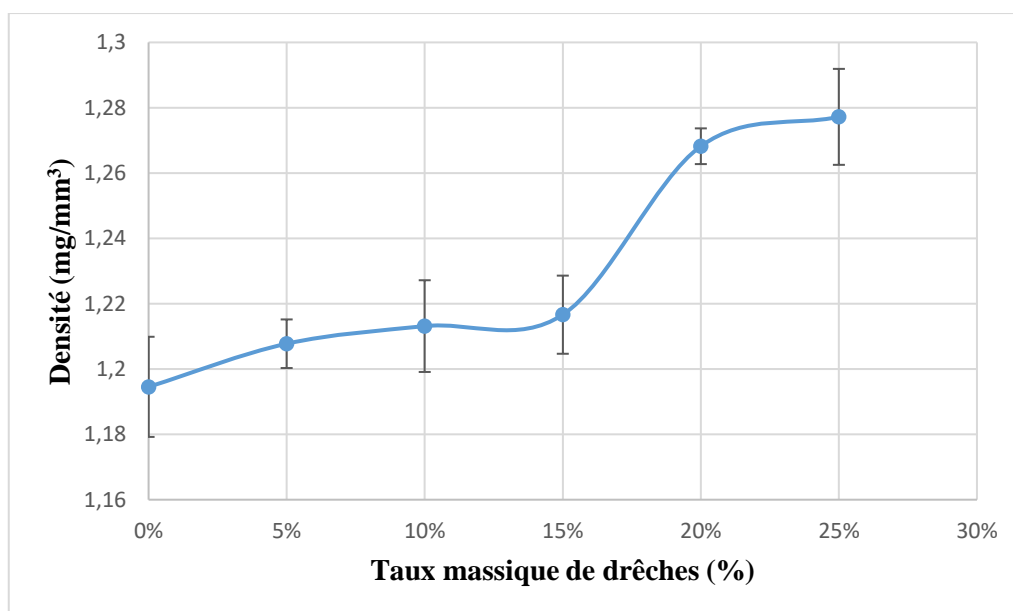


Figure IV-10 : Variation de la densité en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PBS

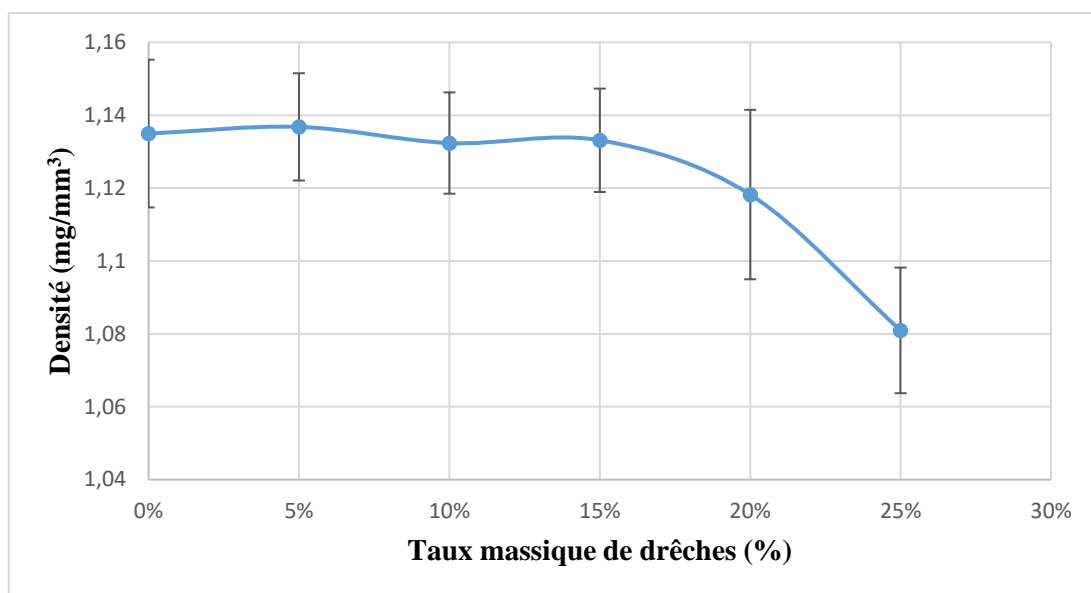


Figure IV-11 : Variation de la densité en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PCL

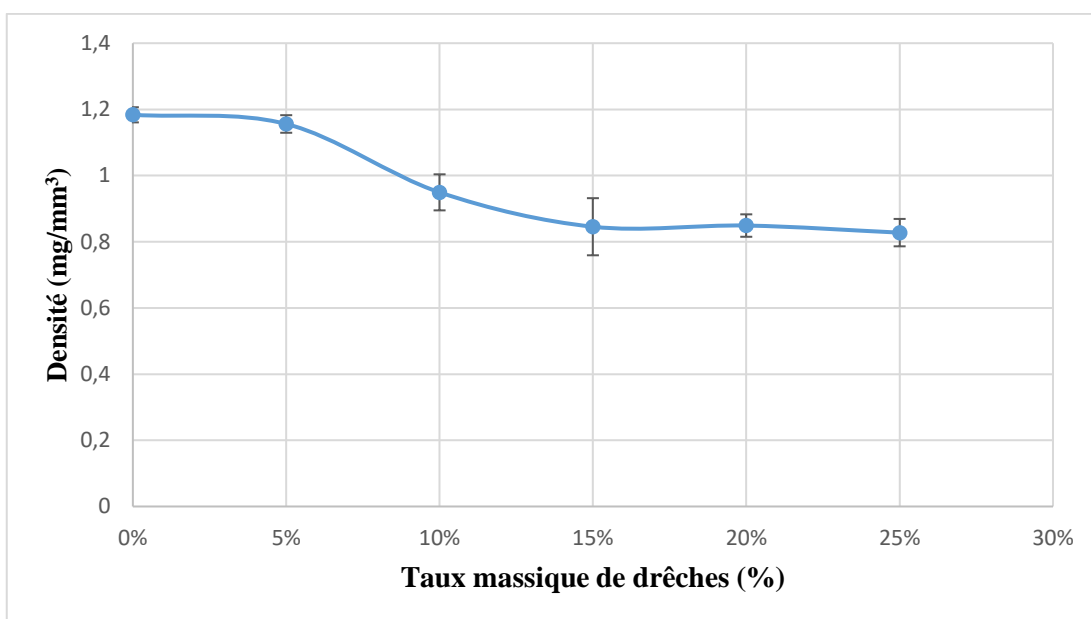


Figure IV-12 : Variation de la densité en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PHB

Ces résultats nous ont incités à calculer la porosité des composites à base de PHB et de PCL. Les résultats sont représentés dans le **tableau IV-9** et dans le **tableau IV-10**, respectivement. Pour ces calculs, la densité des drêches broyées a été mesurée au pycnomètre dans le cyclohexane et, tout en connaissant la densité du PHB, celle de la PCL et celles des composites associés, il a été possible d'en déduire le volume de vide et la porosité correspondante (en % du volume total) à l'aide des deux formules ci-dessous :

$$\text{Volume}_{\text{vide}} = \text{Volume}_{\text{éprouvette}} - \text{Volume}_{\text{drêches}} - \text{Volume}_{\text{PHB}} \text{ (mm}^3\text{)}$$

$$\text{Porosité} = \text{Volume}_{\text{vide}} / \text{Volume}_{\text{éprouvette}} \times 100 \text{ (\%)}$$

Si les résultats obtenus sur les composites à base de PCL font apparaître une porosité négligeable pour des taux de drêches inférieurs ou égaux à 15% et globalement faible pour des taux plus élevés (seulement 6,6% à 25% de taux de drêches) (**tableau IV-10**), il n'en est pas du tout de même pour les composites à base de PHB. En effet, pour ces derniers, la porosité varie de 6,5% à 34,4% (**tableau IV-9**), confirmant l'hypothèse évoquée précédemment d'une décomposition thermique des drêches au moment de leur compoundage dans le PHB fondu. Ceci est la conséquence d'un point de fusion trop élevé pour le PHB. Sur la base de ces résultats, le polyhydroxybutyrate ne semble donc pas être une matrice bioplastique adaptée pour l'incorporation des drêches traitées. Au regard de ces valeurs de porosité bien trop élevées, le choix a logiquement été fait pour la suite du travail de ne pas tester les composites à base de PHB vis-à-vis de leurs propriétés physiques.

Tableau IV-9 : Porosité des matériaux composites à base de PHB en fonction du taux de drêches

Taux de drêches	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %
Porosité (%)	3,8 ± 1,9	6,5 ± 2,1	23,6 ± 4,4	32,3 ± 6,9	32,2 ± 3,0	34,4 ± 3,3

Tableau IV-10 : Porosité des matériaux composites à base de PCL en fonction du taux de drêches

Taux de drêches	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %
Porosité (%)	Négligeable	Négligeable	Négligeable	Négligeable	2,3 ± 2,5	6,6 ± 1,5

10. Propriétés physiques des composites à base de PCL et de PBS

10.1. Dureté de surface Shore D des composites

La mesure de la dureté de surface Shore D a été réalisée sur les matériaux composites à base de PBS et de PCL, et ce pour les différents taux de drêches testés (0, 5, 10, 15, 20 et 25%). Comme le montrent la **figure IV-13** et la **figure IV-14** ci-dessous, il est observé une augmentation progressive de la dureté de surface des composites, de 50,2° à 56,3° et de 57,4° à 59,2°, respectivement, à mesure de l'augmentation du taux de drêches (de 0 à 25%) dans le PBS ou la PCL. Ces augmentations sont la conséquence du rôle de charge de renfort joué par les drêches

traitées lorsqu'elles sont incorporées dans les deux matrices bioplastiques considérées, leur rigidité et, par voie de conséquence, leur dureté de surface tendant à augmenter en présence des drêches.

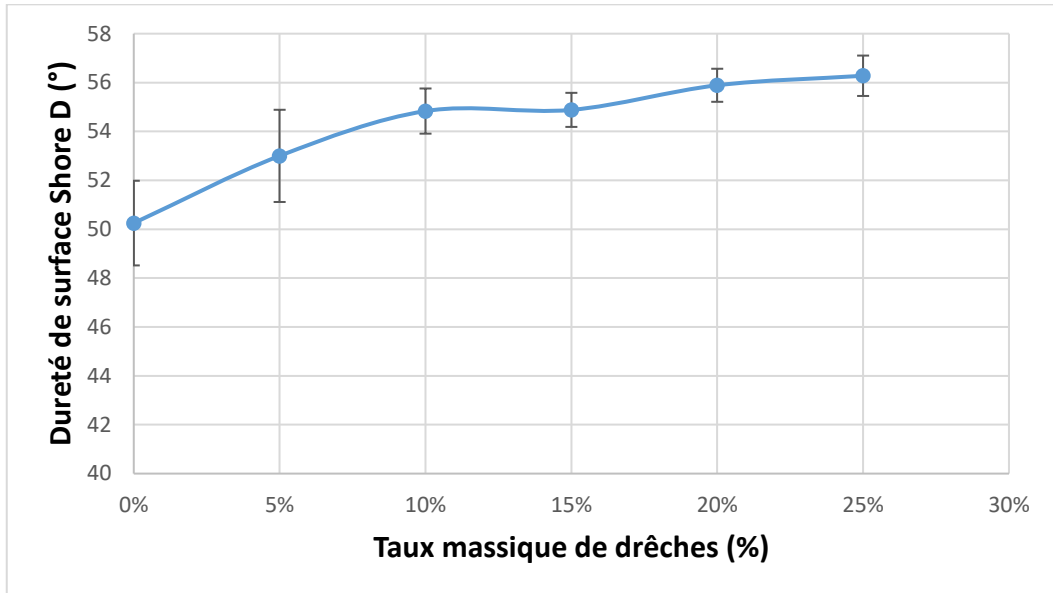


Figure IV-13 : Variation de la dureté de surface Shore D en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PBS

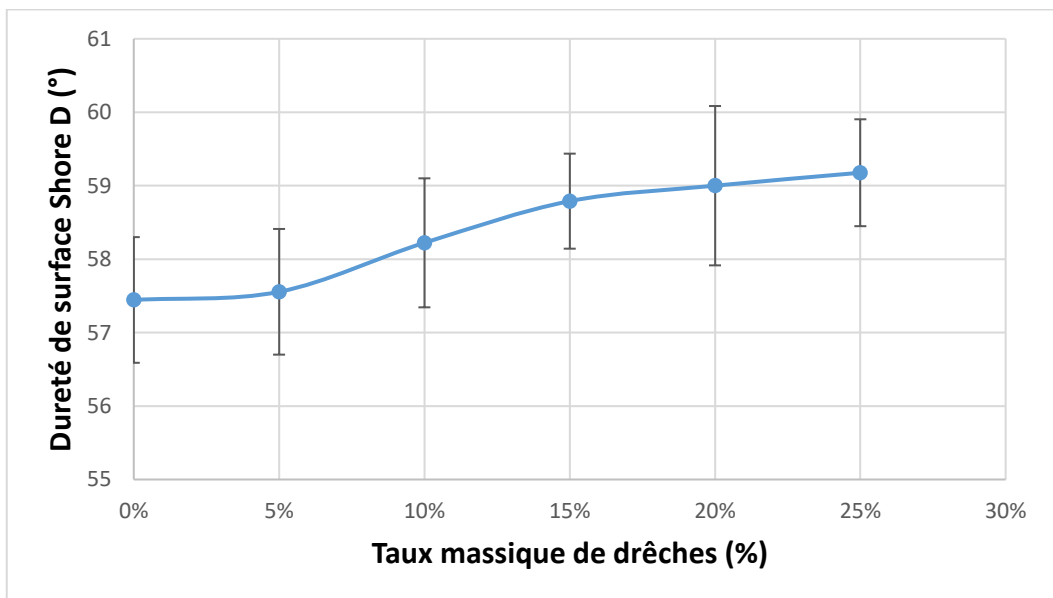


Figure IV-14 : Variation de la dureté de surface Shore D en fonction du taux de drêches pour les composites à base de PCL

10.2. Analyses thermique et thermo-mécanique dynamique des composites à base de PCL et de PBS par DSC et par DMTA

Les propriétés thermomécaniques dynamiques des composites à base de PBS et de PCL, mélangés avec différents taux de drêches, ont été déterminées par analyse DMTA *via* un mode de sollicitation périodique en flexion deux points sur des éprouvettes présentant une largeur de 10 mm, une longueur de 30 mm et une épaisseur de 1 mm. La distance entre les deux appuis était égale à 10 mm.

Les courbes ci-dessous représentent l'évolution en fonction de la température des propriétés mécaniques suivantes : le module de conservation (E') (**figure IV-15** et **figure IV-17**) et le facteur de perte ($\tan \delta$) (**figure IV-16** et **figure IV-18**). Pour chaque famille de composites (ceux à base de PBS de même que ceux à base de PCL), deux transitions de phase sont observables pour chaque formulation. Pour rappel, en analyse DMTA, une transition de phase (transition vitreuse de zones amorphes ou fusion de zones cristallines) est observée lorsqu'une chute brusque et importante du module de conservation (E') est observée simultanément à un pic pour le facteur de perte ($\tan \delta$). Dans notre cas, les observations suivantes peuvent être faites :

- Pour les composites à base de PBS, une première transition intervient à une température de l'ordre de -35°C et la seconde aux environs de $90-100^{\circ}\text{C}$. La première est associée à la transition vitreuse des zones amorphes du PBS et la seconde à la fusion de ses zones cristallines.
- De la même manière, pour les composites à base de PCL, la première transition observée aux environs de -40°C correspond à la transition vitreuse des zones amorphes de la PCL. Quant à la seconde transition observée aux environs de $55-60^{\circ}\text{C}$, elle correspond à la fusion de ses zones cristallines.

Ces résultats sont en relative adéquation avec ceux obtenus lors de l'analyse DSC ayant été pratiquée sur les composites et pour laquelle les transitions vitreuses du PBS et de la PCL ont été mesurées à -46°C et à -64°C , respectivement, indépendamment du taux de drêches. Lors de ces mêmes analyses, la fusion du PBS et celle de la PCL dans les composites ont été mesurées à 88°C et à 56°C , respectivement, là encore indépendamment du taux de drêches (**tableau IV-11**). Au cours des analyses DSC, signalons également que le taux de cristallinité des matrices PBS et PCL a pu être mesuré pour toutes les formulations. S'il semble là encore relativement indépendant du taux de drêches pour les composites à base de PBS (22-24%), il tend à légèrement augmenter pour la PCL avec le taux de drêches le plus élevé (62% au lieu de 57% pour la PCL seule). Une telle

augmentation, même faible, de la cristallinité avec le taux de charge de renfort incorporée avait déjà été observée pour le PLA mélangé à des fibres de miscanthus et de bambou en guise de renforts [46]. L'ajout des drêches traitées à la PCL semblerait donc légèrement favoriser la formation de cristallites.

Tableau IV-11 : Température de transition vitreuse (T_g), température de fusion (T_f), enthalpie de fusion (ΔH_f) et taux de cristallinité de la matrice polymère dans les matériaux composites à base de PCL et de PBS en fonction du taux de drêches

Formulation	Matrice polymère (%)	T_g (°C)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)	Taux de cristallinité χ (%)
PCL (0% de drêches)	100	-63,9±0,7	55,9±0,5	77±2,7	56,9±2,0
PCL (5% de drêches)	95	-62,8±0,7	56,7±1,1	70,4±3,7	54,8±2,8
PCL (10% de drêches)	90	-64,1±1,5	54,8±2,0	71±2,4	58,3±2,0
PCL (15% de drêches)	85	-65,4±0,0	55,3±3,0	69,4±1,2	60,3±1,1
PCL (20% de drêches)	80	-63,2±0,6	56,0±0,3	64,6±0,9	59,7±0,9
PCL (25% de drêches)	75	-64,2±0,4	56,8±0,8	62,7±0,2	61,8±0,2
PBE (0% de drêches)	100	-46,3±1,7	87,2±1,1	45,1±1,6	22,6±0,8
PBE (5% de drêches)	95	-45,8±0,2	87,4±0,5	42,5±2,5	22,4±1,3
PBE (10% de drêches)	90	-45,8±0	86,8±0	43,5±0,7	24,2±0,4
PBE (15% de drêches)	85	-45,2±0	88,0±0,1	38,3±0,4	22,5±0,2
PBE (20% de drêches)	80	-45,6±0	88,1±0,3	36,8±1,7	23±1
PBE (25% de drêches)	75	-45,5±0,4	87,8±0,6	33,8±2	22,5±1,3

L'observation de l'évolution du module de conservation (E') des composites à base de PBS (**figure IV-15**) et de PCL (**figure IV-17**) entre les deux phénomènes de transition de phase observés (transition vitreuse des zones amorphes d'une part, et fusion des zones cristallines d'autre part) permet également de tirer les trois conclusions suivantes :

- Plus la température augmente, plus le module de conservation (E') diminue, ce qui montre une altération progressive de la rigidité du composite du fait de l'agitation thermique associée.
- Pour une même valeur de température, le module de conservation tend à augmenter au fur et à mesure que le taux de drêches augmente, et ce pour les deux matrices bioplastiques testées (PBS et PCL). Il est donc possible d'en déduire que les drêches traitées ont bien un rôle de charge de renfort sur les deux matrices testées, contribuant à une augmentation progressive de leur rigidité et favorisant une meilleure cohésion interne. À terme, le niveau souhaité de rigidité des matériaux composites pourrait être atteint *via* l'ajustement fin de la quantité de drêches incorporées dans le PBS ou la PCL.
- Le module de conservation (E') est nettement plus élevé pour les composites à base de PCL à la température ambiante (à titre d'exemple, + 65% à 20°C pour un taux massique de drêches de 25%) : pour un même taux de drêches, les biocomposites à base de PCL sont donc davantage rigides que ceux à base de PBS qui présentent davantage de ductilité.

En conclusion, s'il n'est pas judicieux d'incorporer des drêches de tomates dans le PHB en raison de leur tendance à se décomposer thermiquement lors du compoundage, les drêches traitées apparaissent comme des candidats de choix pour le renforcement mécanique de deux autres biopolyesters disponibles sur le marché, à savoir le PBS et la PCL. Une augmentation du taux d'incorporation se traduit à la fois par une augmentation de la viscosité en phase fondue des mélanges biocomposites et par une plus forte rigidité de ceux-ci, par comparaison aux matrices seules. Pour un même taux de charge de renfort, les mélanges composites en PCL sont plus rigides à l'ambiant. Néanmoins, leurs températures de fusion nettement plus faibles ne permettront pas de les mettre en œuvre en conditions réelles au-delà de 50°C.

À terme, les matériaux composites ici développés pourraient vraisemblablement être utilisés comme des pièces d'usage unique ou éphémère en raison de leur biodégradabilité en fin de vie, tant pour des utilisations en alimentation humaine (couverts jetables, gobelets, assiettes, etc.) qu'en agriculture ou en horticulture (colliers de serrage, tuteurs pour plantes, agrafes à vigne, pots horticoles, etc.). Selon les cas, le besoin de plus ou moins de rigidité pour l'application visée orientera le choix vers les composites PCL/drêches ou PBS/drêches.

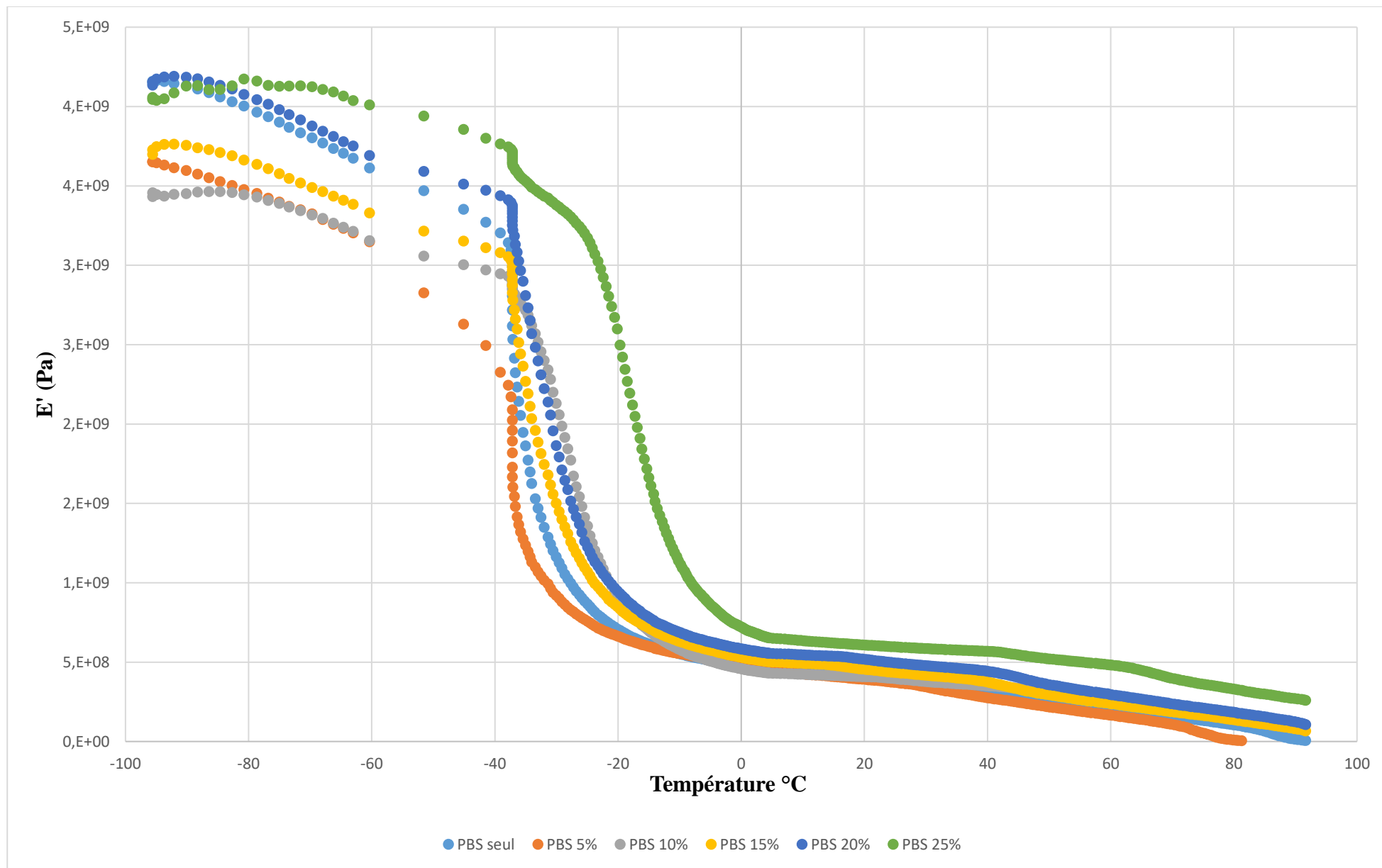


Figure IV-15 : Variation du module de conservation (E') en fonction de la température pour les composites à base de PBS

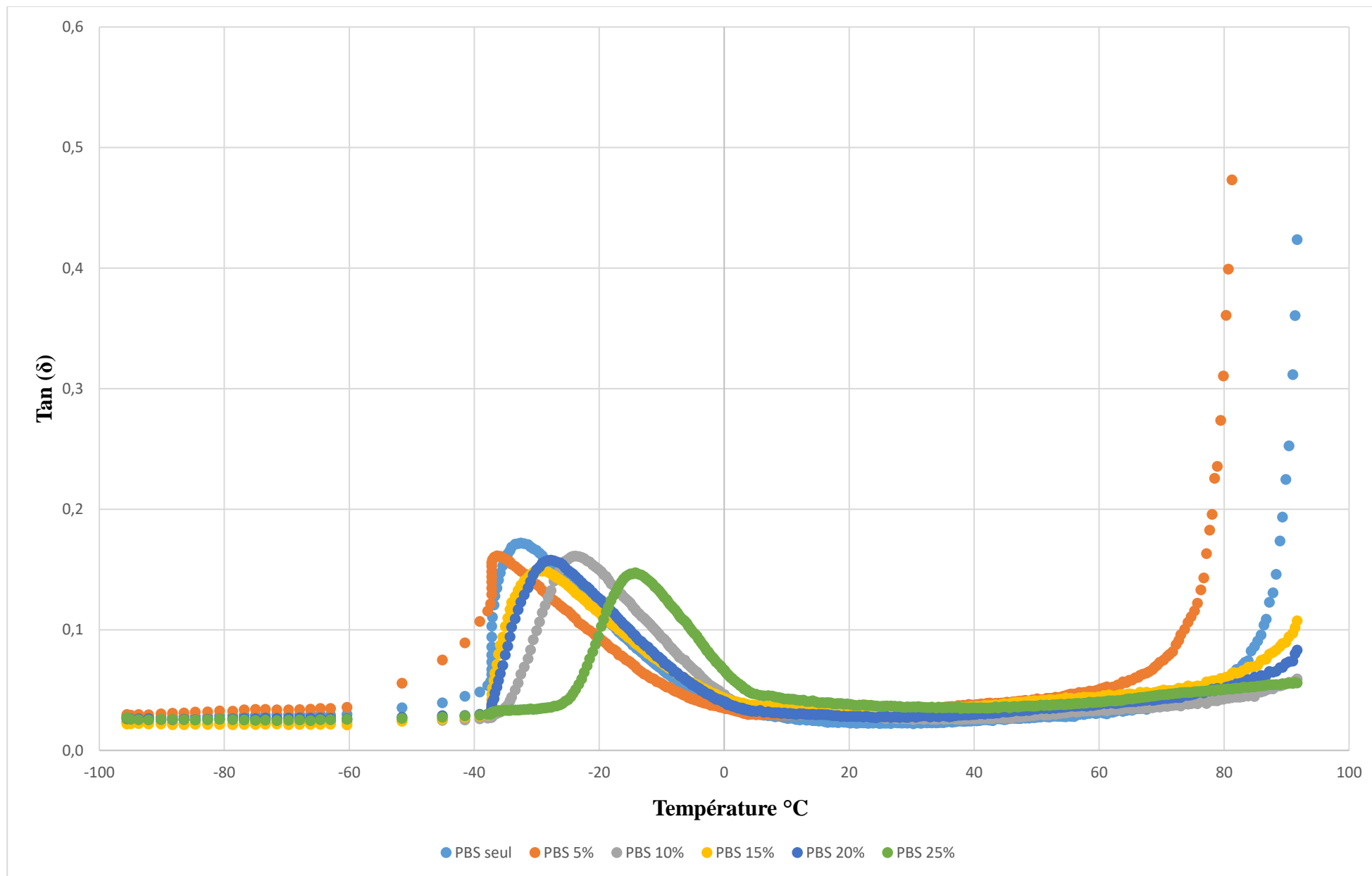


Figure IV-16 : Variation du facteur de perte ($\tan \delta$) en fonction de la température pour les composites à base de PBS

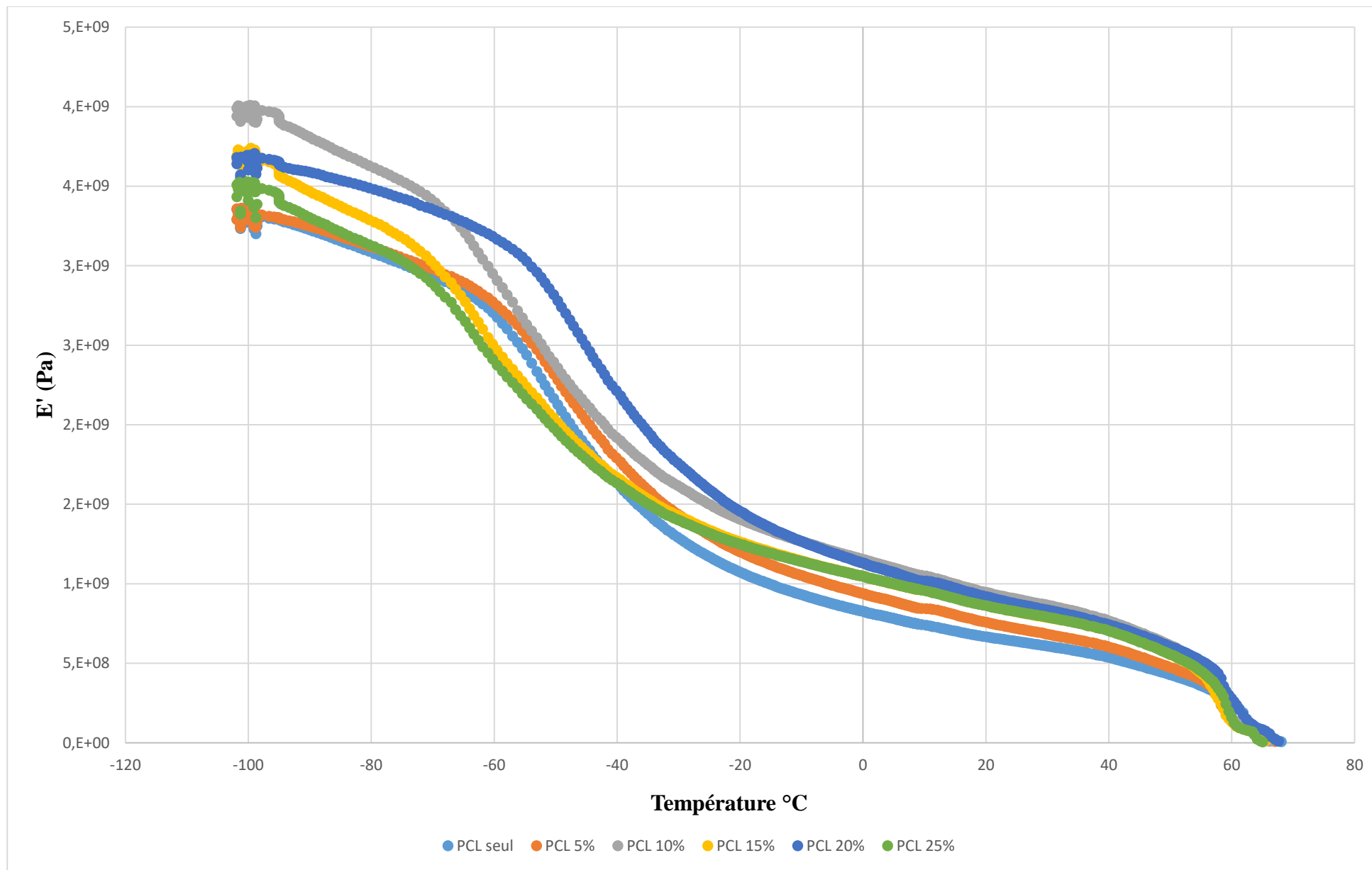


Figure IV-17 : Variation du module de conservation (E') en fonction de la température pour les composites à base de PCL

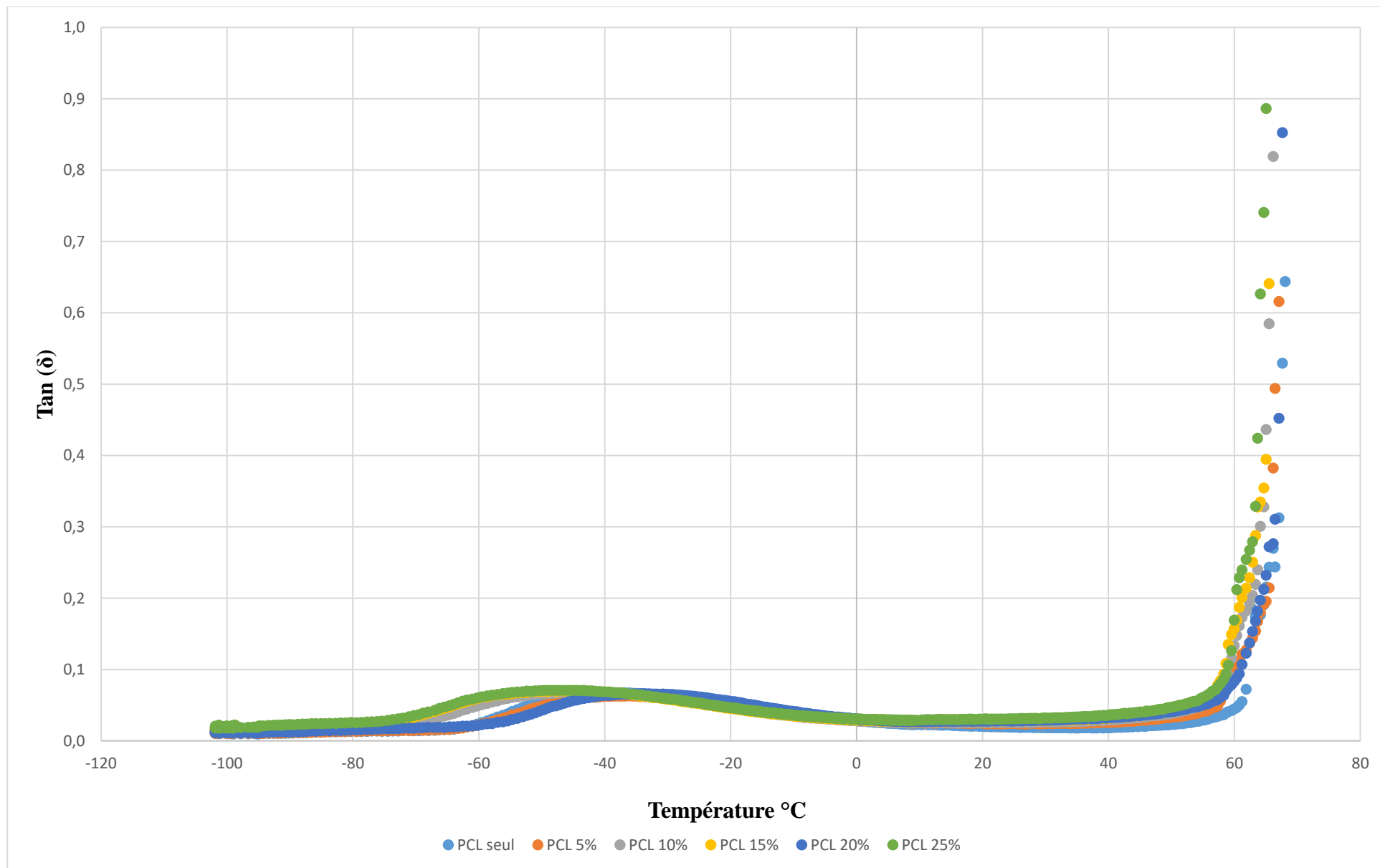


Figure IV-18 : Variation du facteur de perte ($\tan \delta$) en fonction de la température pour les composites à base de PCL

11. Conclusion générale

- Dans ce chapitre, de nouveaux matériaux cohésifs se présentant sous la forme de panneaux durs de fibres ont été conçus par thermopressage à partir des drêches brutes et des drêches traitées. Les conditions de mise en forme retenues (200°C et 20 MPa pendant 150 s) conduisent à la meilleure tenue mécanique, et ce sans ajout de liant (synthétique ou naturel) exogène. Les hémicelluloses et autres sucres libres contenus dans les drêches agissent comme des liants naturels, ce qui favorise la cohésion interne. Par ailleurs, les fibrilles de cellulose contribuent au renforcement mécanique du panneau.
- Ces matériaux 100% naturels pourraient être intéressants pour le conditionnement de denrées alimentaires. En effet, leurs émissions en composés organiques volatils (COV) sont constituées principalement d'aldéhydes linéaires, de composés furaniques et de dérivés de la pyrazine, qui sont associés à des activités antimicrobiennes compatibles avec le conditionnement des aliments.
- De nouveaux matériaux composites ont également été préparés en associant un polymère thermoplastique biodégradable (biosourcé ou non). Les drêches traitées ont été incorporées dans la matrice fondue à différents taux de charge allant jusqu'à 25%. Le PBS et la PCL ont été sélectionnés en raison de leur point de fusion compatible avec la stabilité thermique des drêches lors du mélange à chaud.
- Les analyses DMTA des composites ont montré un réel effet de charge de renfort des drêches traitées, à la fois sur le PBS et sur la PCL, illustré par une augmentation progressive des modules de conservation (E') avec le taux de charge.
- Ces mêmes analyses DMTA ont également mis en évidence un module de conservation plus élevé pour les composites à base de PCL, les rendant plus rigides à l'ambient que ceux à base de PBS.
- Ces matériaux composites plastiques pourraient être utilisés (i) en horticulture ou en agriculture pour leur biodégradabilité en fin de vie (colliers de serrage/attaches pour les composites souples à base de PBS ou tuteurs/agraves pour les composites à base de PCL, qui sont davantage rigides), (ii) en décoration intérieure pour leur aspect « naturel » ou (iii) comme accessoires fonctionnels (couverts jetables, gobelets, assiettes, pots horticoles..).
- Pour la suite, dans une logique d'intensification des procédés, il conviendra de procéder au compoundage des mélanges composites PBS/drêches ou PCL/drêches *via* la technologie d'extrusion bi-vis (méthode continue de compoundage permettant la génération de granulés homogènes et fréquemment utilisée chez les industriels de la plasturgie). Il conviendra

également de s'assurer de la biodégradabilité effective de ces matériaux composites en fin de vie. Différents protocoles normés pourront être mis en œuvre selon les conditions de fin de vie appliquées (compostage industriel, compostage domestique ou dégradation dans le sol).

12. Partie expérimentale

12.1. Préparation de la matière première

Les drêches de tomates fraîches ont été fournies par la coopérative « Les Jus du Soleil » (Marmande, France). Avant extraction, elles ont été séchées en étuve à 50°C pendant 8 h puis broyées afin d'obtenir des particules de taille comprise entre 1 et 2 mm. Leur taille a été mesurée précisément par microscopie optique (grossissement $\times 10$). Avant thermopressage, le broyage des drêches a été réalisé sur un broyeur à marteaux de type Electra (France) F3 équipé d'une grille de 6 mm. Puis, les drêches broyées ont été séchées à 60°C pendant 12 h. La teneur en humidité du matériau broyé était de 1,4% au moment du thermopressage.

12.2. Analyses infrarouges à transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres FTIR des drêches de tomate ont été réalisés dans la gamme 600-4000 cm^{-1} avec un spectrophotomètre PerkinElmer Spectrum 100 en utilisant un dispositif ATR. La ligne de base a été corrigée et l'absorbance a été normalisée entre 0 et 1.

12.3. Méthodes analytiques

Les teneurs en humidité, en matières minérales et en lipides ont été déterminées selon les normes ISO 665:2000, ISO 749:1977 et NF V 18-100 (extracteur Soxhlet), respectivement. Les teneurs en cellulose, en hémicelluloses et en lignines ont été déterminées *via* la méthode ADF-NDF (ADF pour Acid Detergent Fiber, NDF pour Neutral Detergent Fiber) de Van Soest et Wine [11,12].

12.4. Analyse thermogravimétrique (ATG)

Une analyse thermogravimétrique (ATG) des drêches a été réalisée selon la méthode décrite par [Evon et al.](#) [47] avec quelques modifications. La stabilité des drêches brutes et des drêches traitées a ainsi pu être étudiée en fonction de la température. Les mesures ont été effectuées *via* l'analyseur Shimadzu (Japon) TGA-50. L'analyse dynamique a été menée sous air avec une rampe de montée en température de 10 °C/min, en partant de 20 °C et en allant jusqu'à 800 °C en fin d'analyse. Les masses des prises d'essai étaient d'environ 5 mg. L'évolution de la masse de l'échantillon a été mesurée en fonction de l'élévation de la température. Puis, les données ont été utilisées pour tracer une courbe représentant la perte de masse (D) en fonction de la température selon l'équation ci-dessous :

$$D (\%) = (W_0 - W) / W_0 \times 100$$

W_0 et W étaient les poids au début et pendant le balayage (mg).

12.5. Thermopressage

Le thermopressage a été réalisé selon la méthode de [Evon et al.](#) [6]. Avant mise en forme, les drêches brutes et les drêches traitées ont été séchées dans une étuve ventilée (60°C, 15 h) afin de minimiser la génération de vapeur au cours du thermopressage. Une thermopresse d'une capacité de 400 tonnes de la société Pinette Emidecau Industries (France) a été ensuite utilisée pour le thermopressage. Le moulage a été conduit dans un moule en aluminium permettant de produire des panneaux carrés de 150 mm de côtés. Pour toutes les expériences, les paramètres de temps et de pression du procédé de thermopressage étaient toujours les mêmes, c'est-à-dire un temps de pressage de 150 s et une pression appliquée de 20 MPa (correspondant à 204 kgf/cm²) mais à trois températures différentes (180°C, 200°C et 220°C). De plus, la quantité des drêches était toujours de 150 g (soit 444,4 mg/cm²). Les panneaux agglomérés de fibres ont été obtenus à partir des drêches brutes (aux trois températures) et à partir des drêches traitées (à 200°C uniquement). Cela a conduit à la production de trois panneaux différents pour chaque condition de thermopressage. Pour chaque caractéristique mesurée (cf. ci-après), les éprouvettes ont été découpées à l'aide d'une scie à ruban à partir du même panneau aggloméré, ce qui signifie que les données obtenues (comportant la valeur moyenne et l'écart-type associé) illustrent une variation à l'intérieur d'un même panneau. Après avoir atteint un état d'équilibre en enceinte climatique (25°C et 60% HR), un premier panneau a été utilisé pour déterminer l'épaisseur, la densité et les propriétés de flexion. Un deuxième panneau a été utilisé pour mesurer la dureté de surface Shore D. Le troisième panneau a quant à lui été utilisé pour mesurer le gonflement en épaisseur et le taux d'absorption d'eau après immersion dans l'eau pendant 24 h.

12.6. Fabrication des composites à base de PBS, de PCL et de PHB

La fabrication des composites a été réalisée selon la méthode utilisée par [Franzoso et al.](#) [48] avec quelques modifications. Les drêches traitées ont été préalablement broyées très finement (**figure IV-19**) et laissées dans une étuve ventilée à 50°C pendant 8 h. Chaque composite a fait l'objet du mélange manuel d'une masse de drêches (associée à une teneur massique dans le mélange de 0, 5, 10, 15, 20 et 25%) avec une masse de polymère (PBS, PCL ou PHB) en granulés, correspondant à une masse totale du mélange de 8 g. Le mélange a ensuite été introduit dans un micro-compoundeur Thermo Scientific Haake (Allemagne) MiniLab. Cet équipement consiste en un extrudeur bi-vis à vis co-rotatives. Il est également équipé d'un canal de recirculation conçu comme un capillaire à fente. La pression est mesurée à l'entrée et à la sortie du capillaire, et la contrainte de cisaillement est déduite de la perte de charge (ΔP ,

différence de pression entre l'entrée et la sortie du capillaire) lors de la recirculation du mélange fondu. Le changement de vitesse de rotation des vis permet en cours de mélange de modifier le taux de cisaillement relatif appliqué au composite. Au cours de ce travail, la température du mélange a été ajustée afin de prendre en compte les valeurs de température de fusion des trois polymères étudiés : 100°C, 65°C et 170°C pour le PBS, la PCL et le PHB respectivement. Pour chaque mélange, des vitesses de rotation des vis comprises entre 50 et 250 rpm ont été mises en œuvre.

Tous les échantillons ont été préparés selon la même procédure. Lorsque la machine était à la température de consigne et la vitesse de rotation des vis fixée à 50 rpm, le mélange constitué des granulés de polymère et des drêches a été ajouté en trois aliquotes à l'aide d'un piston vertical agissant ici comme un système d'alimentation forcée. Puis, une fois fondu, l'échantillon a été mis en recirculation dans le micro-compoundeur pendant 8 min. Au cours de cette durée, la vitesse de rotation des vis a été augmentée progressivement de 50 à 250 rpm en cinq paliers. Pour chaque palier de vitesse, la perte de charge, mesurée grâce aux deux capteurs de pression de l'appareil, a été relevée afin de permettre le calcul de la contrainte de cisaillement associée et, ultérieurement, de la viscosité apparente du mélange fondu, définie comme le rapport de la contrainte de cisaillement sur le taux de cisaillement. La viscosité apparente a ainsi été mesurée toutes les dix secondes pendant une minute, puis moyennée.

En fin de mesure rhéologique, les vis ont d'abord été arrêtées dans leur rotation puis la chambre a été refroidie avec de l'air comprimé. L'ouverture de la chambre a ensuite été effectuée à une température de 50°C, 40°C et 80°C, respectivement, pour les composites à base de PBS, de PCL et de PHB, permettant de récupérer une éprouvette au niveau du capillaire de recirculation. Toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires. Les éprouvettes présentaient les dimensions suivantes : 70 mm de longueur, 10 mm de largeur et 1 mm d'épaisseur. Ces éprouvettes ont ensuite été utilisées pour mener à bien les diverses caractérisations décrites ci-après (couleur, densité, porosité, dureté de surface Shore D, DSC et DMTA).



Figure IV-19 : Drêches de tomates broyées très finement



Figure IV-20 : Configuration du micro-compoundeur Thermo Scientific Haake MiniLab

12.7. Détermination de la couleur des composites à base de PBS, de PCL et de PHB

La couleur des composites à base de PBS, de PCL et de PHB a été mesurée à la surface des éprouvettes à l'aide d'un chromamètre de type Konica Minolta (Japon) CR-400. L'illuminant utilisé était de type D 65. Normalisée par la Commission Internationale à l'Éclairage (CIE), cette source lumineuse correspond à la lumière du jour avec UV. L'observateur mis en œuvre était l'observateur 10°, défini lui aussi par la CIE.

La couleur peut être caractérisée par trois grandeurs visualisables en trois dimensions et qui sont à la base de la colorimétrie. Plusieurs types de référentiels existent. Pour cette étude, le référentiel choisi a été le référentiel CIE L*a*b* (1986), recommandé par la CIE pour l'étude des surfaces. La géométrie de mesure était un système 45/0 (illumination à 45°, lecture à 0°).

La surface de l'échantillon était éclairée sous un angle de 45° et seule la lumière réfléchie perpendiculairement à la surface de l'échantillon était prise en compte pour la mesure.

Pour chaque échantillon, les mesures ont été répétées quatre fois consécutivement. Les données mesurées ont ensuite été traitées sur ordinateur. Les valeurs des composantes trichromatiques ont été converties en coordonnées L, a et b. Dans l'espace couleur L*a*b*, L* indique la clarté tandis que a* et b* sont les coordonnées de chromaticité : +a* va vers le rouge alors que -a* va vers le vert, et +b* va vers le jaune alors que -b* va vers le bleu. La clarté L* a ici été utilisée pour évaluer l'assombrissement du composite, conséquence de l'ajout des drêches dans la matrice polymère (de 0 pour le noir à 100 pour le blanc de référence). La différence de couleur ΔE^* a quant à elle été utilisée pour quantifier l'évolution de la couleur du composite par comparaison à celle de la matrice bioplastique seule. Elle se calcule de la manière suivante :

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

12.8. Mesure de l'épaisseur et de la densité

L'épaisseur et la densité moyenne des panneaux ont été déterminées à partir de quatre éprouvettes de 30 mm de large et de 130 mm de long, découpées dans une plaque thermorpressée de 150 mm de côtés. Les épaisseurs ont été mesurées en trois points à l'aide d'un pied à coulisse numérique de résolution 0,01 mm, et les longueurs et les largeurs en deux points. Les valeurs moyennes de l'épaisseur (t), de la longueur (L) et de la largeur (l) ont été enregistrées afin de calculer le volume de l'échantillon, et les éprouvettes ont toutes été pesées afin de calculer leur densité (d). L'épaisseur (t) et la densité moyenne (d) des matériaux étaient les valeurs moyennes des mesures effectuées sur les quatre éprouvettes.

12.9. Mesure de la dureté de surface Shore D



Figure IV-21 : Duromètre

La dureté de surface de type Shore D des panneaux agglomérés de fibres et des composites a été mesurée selon la norme française NF EN ISO 868 à l'aide d'un duromètre de marque Bareiss (Allemagne). Pour les panneaux agglomérés de fibres, les mesures ont été répétées soixante-quatre fois (trente-deux fois sur la face supérieure et trente-deux fois sur la face inférieure) pour chaque formulation. Pour les composites, les mesures ont été répétées dix-huit fois (trois fois sur la face supérieure et trois fois sur la face inférieure de chacune des trois éprouvettes fabriquées) pour chaque formulation.

12.10. Détermination des propriétés en flexion

Les propriétés en flexion des plaques thermopressées ont été déterminées selon la norme ISO 16978:2003 *via* la méthode de flexion trois points. Un banc d'essai universel Instron (USA) 33R 4204 équipé d'une cellule de force de 500 N a été utilisé. Les éprouvettes disposaient d'une largeur de 30 mm et d'une longueur de 130 mm. La distance entre les deux appuis était de 80 mm et une vitesse d'avancement du poinçon de 2 mm/min a été appliquée. Pour chaque plaque, les mesures ont été répétées sur quatre éprouvettes. La force de rupture (F), la contrainte en flexion (σ_f) et le module élastique en flexion (E_f) étaient les valeurs moyennes des mesures effectuées sur ces quatre éprouvettes.

12.11. Absorption d'eau et gonflement en épaisseur

Quatre échantillons de 50 mm × 50 mm ont été utilisés pour déterminer le gonflement en épaisseur (TS) et l'absorption d'eau (WA) des matériaux après immersion dans l'eau. Les mesures ont été faites en accord avec la norme ISO 16983:2003. Pour évaluer ces deux paramètres, les échantillons ont été immergés dans de l'eau distillée à 25°C pendant 24 h. L'épaisseur de chaque échantillon a été mesurée avec un pied à coulisse numérique en quatre points, à mi-chemin de chaque côté et à 10 mm du bord, avant et après immersion, permettant de déterminer la valeurs TS. Chaque échantillon a également été pesé avec une précision de 0,01 g avant et après immersion afin de déterminer la valeur WA. Pour chaque plaque, les mesures ont été répétées sur quatre échantillons. Le gonflement en épaisseur (TS) et l'absorption d'eau (WA) étaient les valeurs moyennes des mesures effectuées sur ces quatre échantillons.

12.12. Analyse thermique par calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La calorimétrie différentielle à balayage a été réalisée sur les composites à base de PBS et de PCL selon la méthode décrite par [Franzoso et al. \[48\]](#), et ce à l'aide d'un calorimètre à compensation de puissance de type Mettler Toledo (USA) DSC 1 System STARe, équipé d'un

système de refroidissement IntraCooler. L'azote a été utilisé comme gaz de purge à un débit de 50 mL/min. Avant l'analyse, l'étalonnage de la température et de l'énergie a été effectué à l'aide de zinc, d'indium et d'eau distillée, qui affichent des températures de transition de 419,5°C, 156,6°C et 0°C, respectivement. Les analyses ont été réalisées avec des capsules hermétiques en acier inoxydable de 120 µL munies de joints toriques et pouvant résister à des pressions internes de 20 bars. Une première rampe de montée en température à 10°C/min a d'abord été effectuée jusqu'à 200°C afin d'effacer l'histoire thermique de l'échantillon. Puis, après une rampe de refroidissement jusqu'à -80°C à 15 °C/min et un isotherme de 10 min à -80 °C afin de terminer le refroidissement, une seconde rampe de montée en température a été appliquée dans les conditions suivantes : de -80 °C à 200 °C à 5 °C/min. Pour tous les composites analysés, la prise d'essai était d'environ 10 mg de matériau composite.

L'analyse des données a ensuite été réalisée à l'aide du logiciel STARe SW 9.30. En particulier, les températures de transition vitreuse (T_g) et de fusion (T_f) ont été déterminées à partir de la seconde rampe de montée en température. La T_g a été prise comme le point médian de la déviation de la courbe DSC par rapport à la ligne de base. Les valeurs d'enthalpie de fusion (ΔH_f) ont été déterminées en intégrant la surface du pic de fusion. Le taux de cristallinité (χ) du PBS ou de la PCL a été calculé en pondérant ΔH_f de la proportion massique réelle de PBS ou de PCL dans le composite considéré, puis en utilisant les valeurs suivantes pour les enthalpies de fusion théoriques d'un PBS 100% cristallin et d'une PCL 100% cristalline : 200 J/g [49] et 135,3 J/g [50], respectivement.

12.13. Analyse thermo-mécanique dynamique (DMTA)

Le comportement thermo-mécanique dynamique des composites à base de PBS et de PCL a été évalué à l'aide d'un analyseur DMTA selon la méthode décrite par [Evon et al.](#) [6]. Les expériences de DMTA ont été menées en utilisant un instrument de mesure de type Triton Technology (Royaume-Uni) Tritec 2000. Pour chaque composite testé, trois échantillons de 10 mm de large et de 30 mm de long (1 mm pour leur épaisseur) ont été utilisés. Les mesures ont été effectuées en utilisant un mode de sollicitation en flexion deux points. Les conditions opératoires mises en œuvre étaient les suivantes : une fréquence de sollicitation égale à 10 Hz, un déplacement de 50 µm et un gradient de montée en température de 3 °C/min, de -100°C à 65°C pour les composites à base de PCL et de -100°C à 100°C pour ceux à base de PBS. La distance entre les deux appuis était de 10 mm. Le module de conservation (E') et le facteur de perte ($\tan \delta$) ont été tracés à partir des données enregistrées par l'appareil.

12.14. Étude qualitative des émissions de composés organiques volatils

Une éprouvette du matériau à analyser (130 mm × 30 mm × 5,5 mm) a été placée dans la cellule de mesure présentée en **figure IV-22**.

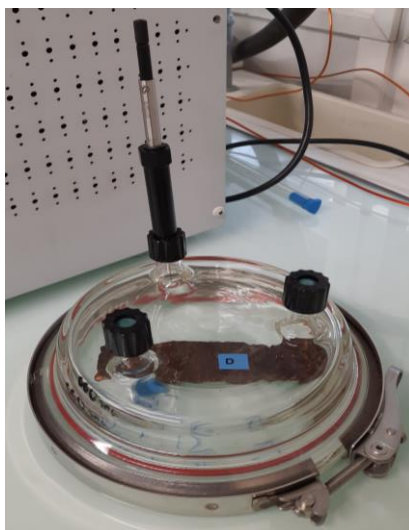


Figure IV-22 : Montage expérimental



(a)



(b)

Figure IV-23 : (a) chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse, (b) fibre SPME dans l'injecteur

L'étude des émissions de COV a été réalisée en utilisant une cellule d'émission en verre développée par [Uitterhaegen et al. \[51\]](#). La cellule, d'un volume de 660 mL, est lavée avec un détergent, rincée à l'eau du robinet puis à l'eau Milli-Q. Elle est séchée, fermée et balayée par de l'azote pendant quelques minutes. Un blanc de cellule est réalisé avant l'introduction d'une éprouvette.

Les COV présents dans l'atmosphère de la cellule sont échantillonnés en mode statique par micro-extraction en phase solide (SPME) grâce à une fibre PDMS/DVB (65 μm) présentée en **figure IV-22** [51]. Cette dernière a été conditionnée sous balayage d'hélium à 250°C pendant 30 min. Après 45 min de mise à l'équilibre du matériau dans la cellule à 23 \pm 1°C, un prélèvement de COV est réalisé dans la cellule. Les composés ainsi échantillonnés sont ensuite analysés au moyen d'un chromatographe en phase gazeuse (Agilent 6890) couplé à un spectromètre de masse (Agilent 5973 Network) présentée en **figure IV-23 (a)**. Ce dernier est équipé d'une source d'ionisation par impact électronique (70 eV) et d'un analyseur quadripolaire. Les conditions opératoires de l'analyse sont présentées dans le **tableau IV-12**. L'identification des composés a été réalisée dans un premier temps par comparaison de spectres expérimentaux avec ceux de la bibliothèque NIST MS Search 2.2. Seules les hypothèses d'identification obtenues avec des valeurs de facteurs *Match* et *Reverse Match* supérieures à 800 ont été retenues. L'identification a ensuite été confirmée par le calcul de l'indice de rétention (IR) de chaque pic à partir de l'injection d'un mélange d'alcane linéaires (C₆-C₁₆) *via* la relation suivante :

$$\text{IR} = 100 \times \frac{t_{R(i)} - t_{R(z)}}{t_{R(z+1)} - t_{R(z)}} + 100z$$

Avec : IR : indice de rétention du composé i,
t_{R(i)} : temps de rétention du composé i,
t_{R(z)} : temps de rétention de l'alcane linéaire détecté avant le composé i,
t_{R(z+1)} : temps de rétention de l'alcane linéaire détecté après le composé i,
z : nombre d'atomes de carbone dans l'alcane linéaire détecté avant le composé i.

Les valeurs expérimentales des IR ont été comparées à celles des bases de données. En recoupant les informations obtenues avec les spectres de masse et les indices de rétention, les identifications retenues ont été consignées dans le **tableau IV-4**.

Tableau IV-12 : Conditions opératoires relatives à l'analyse par GC-MS

Chromatographe en phase Gazeuse (Agilent 6890 GC)
<ul style="list-style-type: none">- Injecteur : mode splitless, T = 250 °C,- P_{He} = 9,9 psi, d = 1,3 mL/min,- Durée de désorption de la fibre : 5 min- Colonne : DB5MS (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm)- Programmation de température : 45 °C (3 min), 5 °C/min (150 °C) (2 min), 8 °C/min (250 °C) (10 min)
Spectromètre de Masse (Agilent 5973 Network)
<ul style="list-style-type: none">- Source : ionisation par impact électronique (70 eV), T = 230 °C- Température de la ligne de transfert : 250 °C- Analyseur : quadripôle- Mode d'acquisition de données : SCAN (35 à 400 uma)- Bibliothèque de spectres : NIST 2.2

Références bibliographiques

- [1] Puitel AC, Tofanica BM, Gavrilesco D. Environmentally friendly vegetable fiber based materials. *Environmental Engineering and Management Journal*. 2012; 11(3): 651-659.
- [2] Gurunathan T, Mohanty S, Nayak SK. A review of the recent developments in biocomposites based on natural fibres and their application perspectives. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*. 2015; 77: 1-25.
- [3] Mohanty AK, Misra M, Drzal LT. Sustainable bio-Composites from renewable resources: opportunities and challenges in the green materials world. *Journal of Polymers and The Environment*. 2002; 10: 19-26.
- [4] Uitterhaegen E, Labonne L, Merah O, Talou T, Ballas S, Véronèse T, et al. Optimization of thermopressing conditions for the production of binderless boards from a coriander twin-screw extrusion cake. *Journal of Applied Polymer Science*. 2017; 134(13): 44650.
- [5] Evon P, Guyonne de Langalerie, Labonne L, Merah O, Talou T, Ballas S, et al. Low-Density insulation blocks and hardboards from Amaranth (*Amaranthus cruentus*) stems, a new perspective for building applications. *Coatings*. 2021; 11 (3): 349.
- [6] Evon P, Barthod-Malat B, Grégoire M, Vaca-Medina G, Labonne L, Ballas S, et al. Production of fiberboards from Shives collected after continuous fiber mechanical extraction from Oleaginous Flax. *Journal of Natural Fibers*. 2019 ; 16(3) : 453-469.
- [7] Manrich A, Moreira F, Otoni CG, Lorevice MV, Martins MA, Mattoso L. Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin. *Carbohydrate Polymers*. 2017; 164: 83-91.
- [8] Tedeschi G, Benitez JJ, Ceseracciu L, Dastmalchi K, Itin B, Stark RE, et al. Sustainable fabrication of plant cuticle-like packaging films from tomato Pomace agro-waste, Beeswax, and Alginate. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 2018; 6: 14955-14966.
- [9] Toscano G, Pizzi A, Foppa Pedretti E, Rossini G, Ciceri G, Martignon G, Duca D. Torrefaction of tomato industry residues. *Fuel*. 2015; 143: 89-97.
- [10] Manrich A, Moreira F, Otoni CG, Lorevice MV, Martins MA, Mattoso L. Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin. *Carbohydrate Polymers*. 2017; 164: 83-91.

- [11] Van Soest PJ, Wine RH. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*. 1967; 50(1): 50-55.
- [12] Van Soest PJ, Wine RH. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*. 1968 ; 51 (4): 780-785.
- [13] Chiou B, Valenzuela-Medina D, Bilbao-Sainz C, Klamczynski AK, Avena-Bustillos RJ, Milczarek RR, et al. Torrefaction of pomaces and nut shells. *Bioresource Technology*. 2015; 177: 58-65.
- [14] Kilmanoglu H, Isleten Hosoglu M, Guneser O, Yuceer Y. Optimization of pretreatment and enzymatic hydrolysis conditions of tomato pomace for production of alcohols and esters by *Kluyveromyces marxianus*. *LWT-Food Science And Technology*. 2021; 138: 1-7.
- [15] Tajuddin M, Ahmad Z, Ismail H. A review of natural fibers and processing operations for the production of binderless boards. *BioResources*. 2016; 11(2): 5600-5617.
- [16] Ismail N, Sulong A, Muhamad N, Tholibon D, Radzi M, Ibrahim W, et al. Review of the compression moulding of natural fiber-reinforced thermoset composites: material processing and characterisations. *Tropical Agricultural Science*. 2015; 38: 533-547.
- [17] Parasnis NC, Ramani K. Analysis of the effect of pressure on compression moulding of UHMWPE. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1998; 9(3): 165-172.
- [18] Evon P, Vinet J, Labonne L, Rigal L. Influence of thermo-pressing conditions on the mechanical properties of biodegradable fiberboards made from a deoiled sunflower cake. *Industrial Crops and Products*. 2015; 65: 117-126.
- [19] Directive européenne du 11 mars 1999, relative à la réduction des émissions de COV dues à l'utilisation de solvants organiques dans certaines activités et installations.
- [20] Simon V, Dumergues L, Ponche J, Torres L. The biogenic volatile organic compounds emission inventory in France. Application to plant ecosystems in Berre-Marseilles area (France). *The Science of the Total Environment*. 2006; 372(1): 164-182.
- [21] CITEPA, données consultées le 01/05/2022 sur (<https://www.citepa.org/fr/2021-covnm/>).

[22] Arrêté du 19 avril 2011 relatif à l'étiquetage des produits de construction ou de revêtement de mur ou de sol et des peintures et vernis sur leurs émissions de polluants volatils, (<https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000023991852/>).

[23] Böhm M, Salem M, Srba J. Formaldehyde emission monitoring from a variety of solid wood, plywood, blockboard and flooring products manufactured for building and furnishing materials. *Journal of Hazardous Materials*. 2012; 221-222: 68-79.

[24] Hyttinen M, Masalin-Weijo M, Kalliokoski P, Pasanen P. Comparison of VOC emissions between air-dried and heat-treated Norway spruce (*Picea abies*), Scots pine (*Pinus sylvestris*) and European aspen (*Populus tremula*) wood. *Atmospheric Environment*. 2010; 44(38): 5028-5033.

[25] Nicolas M, Ramalho O, Maupetit F. Reactions between ozone and building products: Impact on primary and secondary emissions. *Atmospheric Environment*. 2007; 4: 3129-3138.

[26] Son Y, Lim BA, Park H, Kim J. Characteristics of volatile organic compounds (VOCs) emitted from building materials to improve indoor air quality: focused on natural VOCs. *Air Quality Atmosphere and Health*. 2013; 6: 737-746.

[27] Mildner-Szkudlarz S, Rozanska M, Gaca A, Jelen HH. Changes in volatile compound profiles of cold-pressed berry seed oils induced by roasting. *Food Science and Technology*. 2021; 148: 111718.

[28] Du X, Song M, Baldwin E, Rouseff R. Identification of sulphur volatiles and GC-olfactometry aroma profiling in two fresh tomato cultivars. *Food Chemistry*. 2015; 171: 306-314.

[29] Adams RP, Habte M, Park S, Dafforn MR. Preliminary comparison of vetiver root essential oils from cleansed (bacteria- and fungus-free) versus non-cleansed (normal) vetiver plants. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2004; 32(12):1137-1144.

[30] Ames JM, Guy RCE, Kipping GJ. Effect of pH, temperature, and moisture on the formation of volatile compounds in Glycine/Glucose model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001; 49(9): 4315-4323.

[31] Gocmen D, Gurbuz O, Rouseff RL, Smoot JM, Dagdelen AF. Gas chromatographic-olfactometric characterization of aroma active compounds in sun-dried and vacuum-dried tarhana. *European Food Research and Technolgy*. 2004; 218: 573-578.

- [32] Risticvic S, Carasek E, Pawliszyn J. Headspace solid-phase microextraction–gas chromatographic–time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. *Analytica Chimica Acta*. 2008; 617, 72-84.
- [33] Liu Q, Luo Y, Wang H, Peng W, Chen S, Yu M *et al.* "Pyrolysis- GC/MS analysis of biomedical components of the pyrolyzate of Santalum Album leaf treated by benzene/ethanol extraction". 2008 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering.
- [34] Cepeda-Vázquez M, Rega B, Descharles N, Camel V. How ingredients influence furan and aroma generation in sponge cake. *Food Chemistry*. 2018; 245: 1025-1033.
- [35] Ho CT, Zheng X, Li S. Tea aroma formation. *Food Science and Human Wellness*. 2015; 4 (1): 9-27.
- [36] Kim YS, Ahn ES, Shin DH. Extension of shelf life by treatment with allyl isothiocyanate in combination with acetic acid on cooked rice. *Journal of Food Science*. 2006; 67(1): 274-279.
- [37] Chu C, Liua W, Zhou t. Fumigation of sweet cherries with thymol and acetic acid to reduce postharvest brown rot and blue mold rot. *Fruits*. 2001; 56: 123–130.
- [38] Reddy LJ, Jose B. Chemical composition and antibacterial activity of the volatile oil from the bark of *Gliricidia Sepium*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2010; 2(3): 177-179.
- [39] Alizadeh M, Jalal M, Hamed K, Saber A, Kheirouri S, Tabrizi F, *et al.* Recent updates on anti-inflammatory and antimicrobial effects of furan natural derivatives. *Journal of Inflammation Research*. 2020; 13: 451-463.
- [40] Chai W, Liu X, Hu Y, Feng H, Jia Y, Guo Y, *et al.* Antityrosinase and antimicrobial activities of furfuryl alcohol, furfural and furoic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2013; 57: 151-155.
- [41] Janamatti Archana T, Gogoi R, Kaur C, Varghese E, Sharma RR, Srivastav M, *et al.* Bacterial volatile mediated suppression of postharvest anthracnose and quality enhancement in mango. *Postharvest Biology and Technology*. 2021; 177: 111525.

- [42] Song J, Fan L, Forney C, Campbell-Palmer L, Fillmore S. Effect of hexanal vapor to control postharvest decay and extend shelf-life of highbush blueberry fruit during controlled atmosphere storage. *Canadian Journal of Plant Science*. 2010; 90: 359-366.
- [43] Felicioli A, Cilia G, Mancini S, Turchi B, Galaverna G, Cirlini M, Cerri D, et al. *In vitro* antibacterial activity and volatile characterisation of organic *Apis mellifera ligustica* (Spinola, 1906) beeswax ethanol extracts. *Food Bioscience*. 2019; 29: 102-109.
- [44] Germinara GS, Antonio De Cristofaro, Rotundo G. Repellents effectively disrupt the olfactory orientation of *Sitophilus granarius* to wheat kernels. *Journal of Pest Science*. 2015; 88: 675-684.
- [45] Cazaudehore G, Evon P, Guyoneaud R, Martin-Closas L, Pelacho AM, Raynaud C et al. Can anaerobic digestion be a suitable end-of-life scenario for biodegradable plastics? A critical review of the current situation, hurdles, and challenges. *Biotechnology Advances*. 2022; 56: 1-28.
- [46] Gamon G, Evon P, Philippe, Rigal L. Twin-screw extrusion impact on natural fibre morphology and material properties in poly(lactic acid) based biocomposites. *Industrial Crops and Products*. 2013; 46: 173-185.
- [47] Evon P, Kartika IA, Rigal L. New renewable and biodegradable particleboards from *Jatropha* press cakes. *Journal of Renewable Materials*. 2014; 2: 52-65.
- [48] Franzoso F, Vaca-Garcia C, Rouilly A, Evon P, Montoneri E, Persico P, et al. Extruded versus solvent cast blends of poly(vinyl alcohol-co-ethylene) and biopolymers isolated from municipal biowaste. *Journal of Applied Polymer Science*. 2016, 133, 43009.
- [49] Gowman A, Wang T, Rodriguez-Uribe A, Mohanty AK, Misra M, Bio-poly(butylene succinate) and its composites with grape pomace: Mechanical performance and thermal properties. *ACS Omega*. 2018; 3: 15205-15216.
- [50] Pitt C, Chasalow F, Hibionada YM, Klimas DM, Schindler A. Aliphatic polyesters. I. The degradation of poly(ϵ -caprolactone) *in vivo*. *Journal of Applied Polymer Science*. 1981; 26 (11): 3779-3787.
- [51] Uitterhaegen E, Burianová K, Ballas S, Véronèse T, Merah O, Talou T, et al. Characterization of volatile organic compound emissions from self-bonded boards resulting from a coriander biorefinery. *Industrial Crops & Products*. 2018; 122: 57-65.

Conclusion générale et perspectives

La demande croissante en extraits naturels pour les secteurs de la nutraceutique et des cosmétiques ou pour le domaine pharmaceutique, peut conduire à une surexploitation des ressources naturelles. C'est pourquoi, l'utilisation d'un co-produit d'une production agricole constitue un approvisionnement raisonné. Les drêches de tomates représentent un gisement important dans la plupart des pays méditerranéens. La possibilité d'utiliser une ressource végétale locale contribue à limiter les impacts environnementaux. Toujours pour répondre aux défis du XXI^{ème} siècle en terme d'environnement et de santé, la mise en œuvre de procédés d'éco-extraction de la matière végétale est un moyen de produire des extraits plus sûrs et de qualité, tout en préservant la compétitivité des industries. L'état de l'art a permis de rassembler des informations sur la composition des drêches de tomates qui contiennent des lipides et de nombreux métabolites présents dans les peaux et les graines, ainsi que des biopolymères du type lignocellulosiques, polysaccharides, polyesters et protéines.

Dans ce contexte, la présente étude était consacrée à valoriser différentes fractions issues de drêches de tomates, en impliquant des procédés éco compatibles, pour en isoler d'une part, des fractions bioactives et d'autre part, les biopolymères. Pour générer des fractions d'intérêt, le fractionnement de la matière végétale (drêches de tomates) a été réalisé à l'aide de procédés de pré-traitement en milieux aqueux, de procédés de macération dans des solvants biosourcés incluant des solvants naturels eutectiques profonds, ainsi qu'à l'aide de CO₂ supercritique. Ce panel de conditions a permis d'obtenir des extraits de compositions différentes, analysées par chromatographie liquide. Ce panel de compositions provient du caractère plus ou moins polaire des solvants, ainsi que leur aptitude à former de liaisons hydrogène, ce qui confère une sélectivité aux procédés d'extraction mis en œuvre.

Les fractions obtenues ont présenté des activités biologiques intervenant *in vitro* sur les mécanismes suivants: propagation des radicaux libres, processus inflammatoire, libération des sucres, développement de cellules cancéreuses du côlon et infection virale par ZIKV. Ainsi, les fractions éthanoliques (avec ou sans mélange avec l'eau) ont montré **des activités anti-oxydantes** importantes liées notamment à la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes (IC₅₀ autour de 70 %). Cette caractéristique semble contribuer aux propriétés anti-diabétiques détectées pour ces extraits (IC₅₀ entre 5 et 8 mg/mL). La fraction éthanolique s'avère également intéressante pour **son activité cytotoxique** vis-à-vis des lignées cellulaires tumorales (HCT-116) (I = 35%). Cette activité est accrue avec un prétraitement enzymatique

des drêches. Cette même fraction permet, de plus, de limiter **l'infection des cellules A549** par le ZIKV^{GFP}, tout en respectant la viabilité cellulaire. Les fractions riches en caroténoïdes (notamment celle extraite par le CO₂ supercritique) présentent également des propriétés anti-oxydantes intéressantes (I = 63 %). Le rôle favorable des caroténoïdes a également été identifié pour les **propriétés anti-inflammatoires**, en particulier lorsque le prétraitement chimique des drêches enrichit la fraction acétate d'éthyle en caroténoïdes. La fraction obtenue par le CO₂ supercritique indique **une activité cytotoxique** la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition proche de 65%. Ce résultat peut être attribué aux teneurs en lycopène, en dérivés de rutine et en tanins. Nos résultats montrent que, dans aucun cas, **un prétraitement des drêches** ne permet de dépasser la meilleure valeur d'activité atteinte. Enfin, nous avons la confirmation de l'existence d'**une synergie** entre molécules polaires/apolaires, compte tenu des activités modérées obtenues pour la fraction éthanolique épurée des molécules les plus lipophiles (prétraitement à l'acétate d'éthyle). Ce point conforte notre démarche d'étudier les propriétés des extraits sans fractionnement des molécules.

Les solvants eutectiques profonds (DES) permettent de s'affranchir de l'utilisation d'un solvant organique volatil. Les NaDES sélectionnés pour leur composants d'origine naturelle ont permis d'extraire des métabolites secondaires dont les profils sont différents de ceux obtenus avec les solvants organiques. Le NaDES « acide lactique/glucose » présente les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes les plus élevées. Le mélange « DL-menthol/acide lactique » a confirmé sa capacité à extraire les composés peu polaires (caroténoïdes, lipides, tocophérols). Nous avons montré que grâce aux NaDES, il était possible d'enchaîner l'étape d'extraction et celle de formulation en évitant une étape de séparation du solvant. Nous avons réalisé plusieurs types de formulations cosmétiques incluant les NaDES et les métabolites extraits. Ces formulations préliminaires sont stables et dotées de propriétés filmogènes, ce qui démontre la faisabilité de cette démarche en écoconception, pour formuler des ingrédients naturels.

A partir des biopolymères des drêches, un nouveau matériau cohésif a été préparé par thermopressage; ces panneaux compacts, 100% à base de fibres naturelles sans ajout de liant exogène, ont des propriétés mécaniques adaptées à des applications de conditionnement. L'analyse des composés organiques volatils (COV) émis par le matériau ne montre pas d'incompatibilité avec le conditionnement de denrées alimentaires. Certaines molécules volatiles pourraient même contribuer à améliorer la conservation de fruits ou légumes.

Des matériaux composites ont également été préparés en incorporant les drêches dans la matrice fondue d'un polymère thermoplastique. Le renforcement mécanique des polyesters PBS et PCL a été mis en évidence. Les rigidités des matériaux sont modulables en fonction du taux de charge des drêches et du polymère.

En conclusion, les différents axes de valorisation explorés pour les drêches de tomates permettent de proposer un schéma de bioraffinerie intégrant des procédés éco-responsables (**Figure V-1**). Les débouchés proposés permettent d'envisager une valorisation intégrale de la matière initiale. La bioraffinerie reprend l'ensemble de la chaîne de transformation :

- Au départ, une ressource végétale locale qui limite les coûts de transports et dont la disponibilité est en accord avec les débouchés identifiés. De plus, la valorisation des drêches permet de répondre aux exigences d'une agriculture durable.
- Des procédés mis en œuvre qui visent à minimiser les impacts énergétiques et à réduire le nombre d'étapes pour l'obtention des produits fonctionnels (principes actifs matériaux, cosmétiques). Les entrants en solvants et en produits auxiliaires ont été minimisés.
- Les aspects sanitaires et environnementaux qui ont été intégrés dans l'élaboration des produits permettront de se conformer plus facilement aux exigences décrites, par exemple, par la pharmacopée européenne, l'écolabel COSMEBIO et la charte ECOLYBEL pour les matériaux.

Ainsi, des perspectives s'offrent à nous pour la suite des travaux :

- Concernant les fractions les plus actives, des analyses quantitatives des principales molécules détectées devront être réalisées. Les activités thérapeutiques mises en évidence nécessitent également des tests complémentaires pour préciser les résultats en terme de dose minimale utile.
- L'intérêt d'appliquer un pré-traitement (chimique ou enzymatique) sur les drêches fraîches mériterait d'être évalué en terme de compositions et de teneurs en métabolites extraits, outre l'économie d'une étape de séchage.
- La macération des drêches fraîches dans un NaDES pourrait être également une solution pour s'affranchir de toute étape de séchage, ce qui compenserait l'addition d'eau fréquemment utilisée pour fluidifier la matrice extractante (NaDES).
- Les formulations cosmétiques réalisées (crème, masques) mériteraient d'être évaluées pour leur propriétés anti-âges (inhibition de la collagénase, élastase et hyaluronidase) ou pour leurs propriétés anti-inflammatoires (inhibition de la lipoxigénase). Un panel devra être également réalisé avec des formulations de référence.

- Pour les agromatériaux obtenus, leur biodégradabilité effective devra être mesurée de façon à définir leur devenir en fin de vie. On peut s'attendre à une biodégradabilité élevée pour le matériau à base de 100% drêche, ce qui est une garantie en cas de contact avec l'environnement.
- Enfin, dans un objectif d'intensification des procédés, les matériaux composites pourront être préparés par extrusion bi-vis, procédé continu de compoundage utilisé dans l'industrie de la plasturgie.

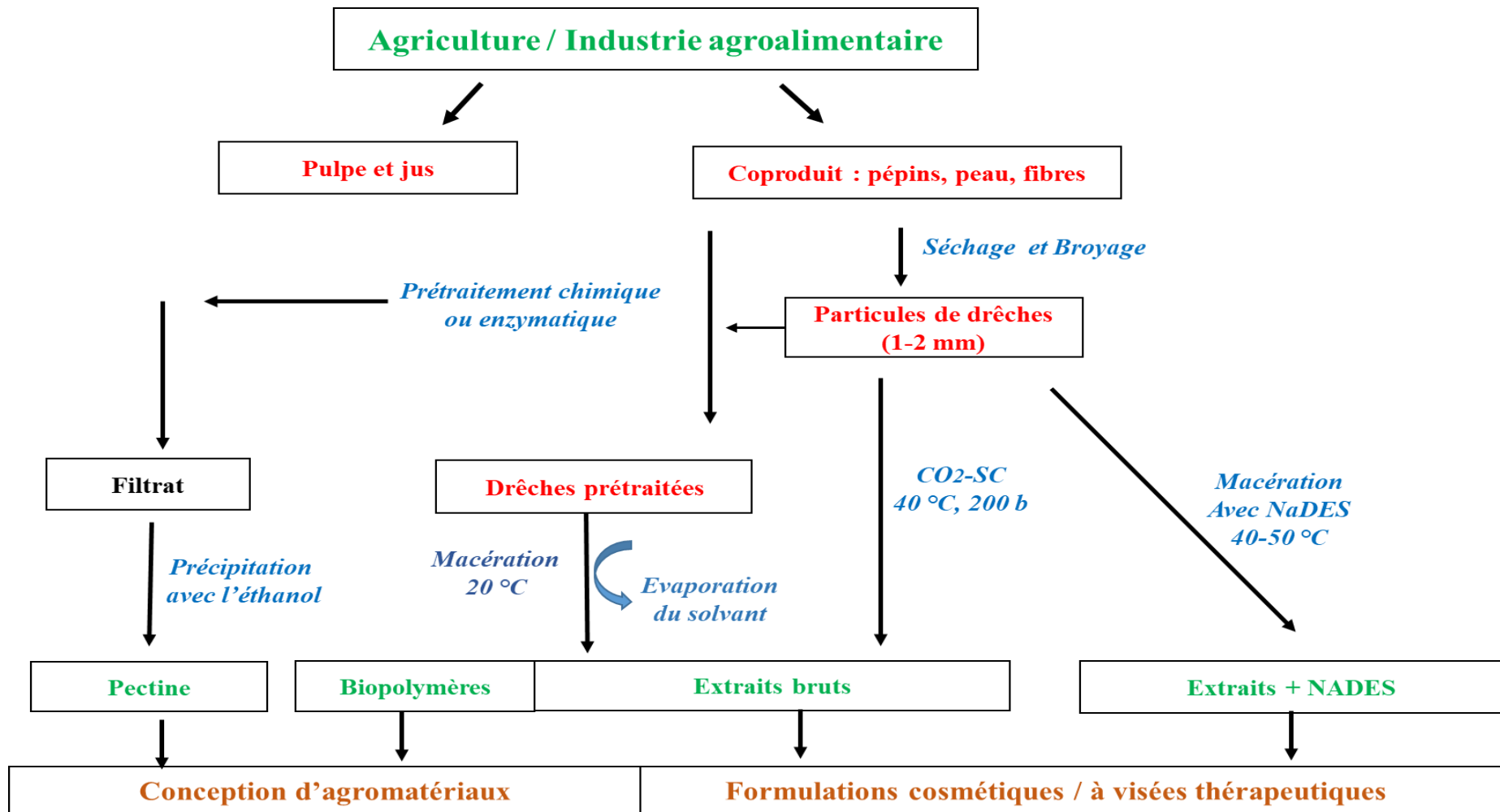


Figure V-1 : Schéma de la bioraffinerie conçue à partir des drêches de tomates.

Liste des abréviations

AcEt: Acétate d'éthyle

ADF -NDF: Acid detergent Fiber - Neutral detergent Fiber

ATCC: American type culture collection

ATG: Analyse thermogravimétrique

CO₂-SC: CO₂ à l'état supercritique

COV: Composés organiques volatils

DES: Solvant eutectique profond

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DMTA: Analyse mécanique dynamique en température

DNS: Acide 3,5-dinitro salicylique

DSC: Calorimétrie différentielle à balayage

DPPH: 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

EAG: Equivalent acide gallique

EAS: Extraction activée par sonication

EAM: Extraction activée par micro-ondes

EQ: Equivalent quercétine

ER: Equivalent rutine

ET: Equivalent trolox

FDA: Food Drug Administration

GFP: Green fluorescent protein

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

GRAS: Generally Recognized as Safe

HBA: Accepteur de liaison hydrogène

HBD: Donneur de liaison hydrogène

HCT-116: Lignées cellulaires tumorales du côlon

HPLC-DAD: Chromatographie en phase liquide à haute performance : détecteur à barrette de diode

IR: Indice de rétention

15-LOX: Enzyme 15-lipoxygénase

MI : Multiplicité d'infection

MS: Matière sèche

NaDES : Solvant naturel eutectique profond

NDGA: Acide nordihydro guaiarétique

PBS: Poly(butylène succinate)

PCL: Polycaprolacton

PHB: Polyhydroxy butyrate

PNPG: p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside

PVA: Alcool polyvinylique

ROS: Espèces réactives de l'oxygène

TA: Température ambiante

T_c: Température de cristallisation

T_d: Température de décomposition

T_g: Température de transition vitreuse

TR: Temps de rétention

u.a : Unité d'aire

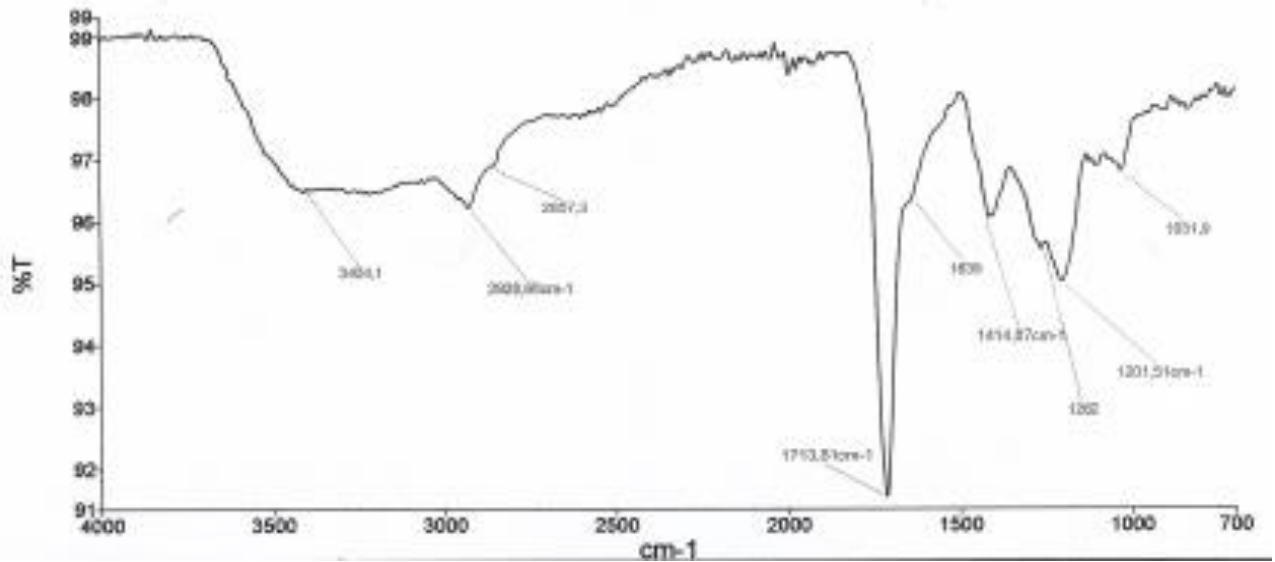
UE: Union Européenne

UV: Ultra-violet

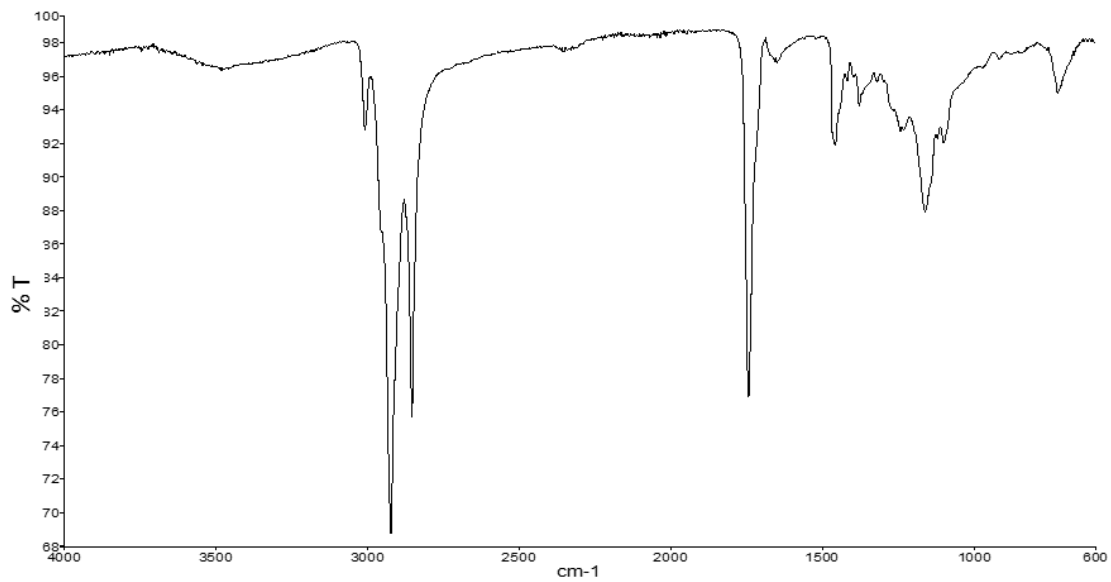
ZIKV: Arbovirus ZIKA

Annexes

Annexe 1 : Spectres infra-rouge des drêches en mode ATR

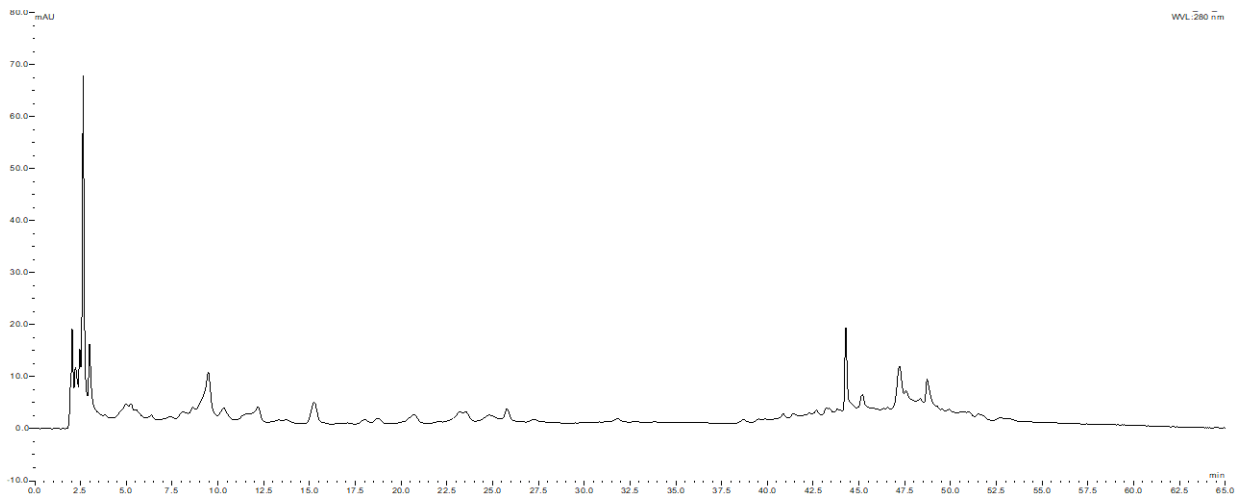


Spectre des drêches brutes

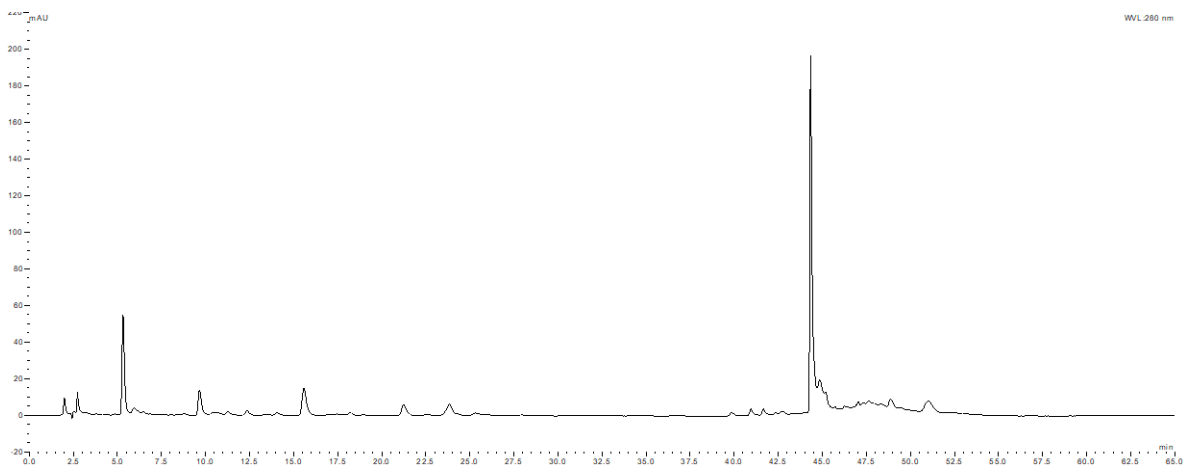


Spectre des drêches prétraitées

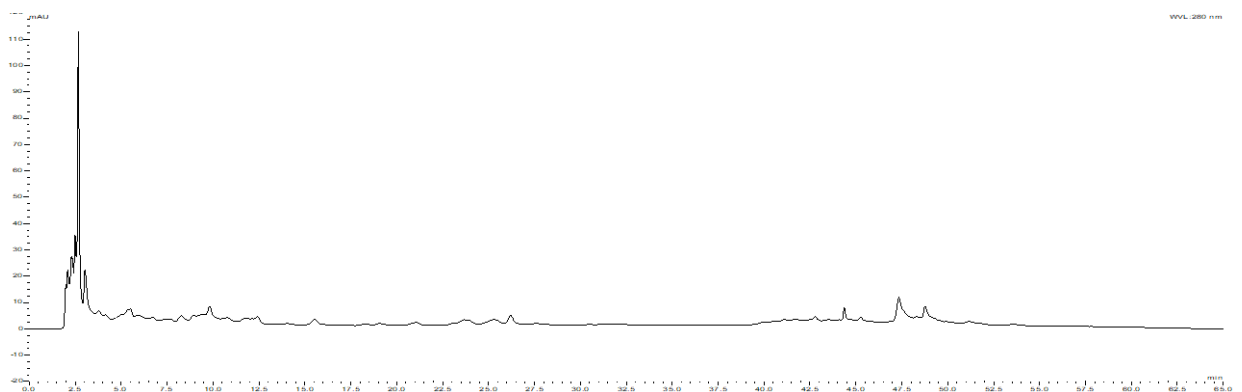
Annexe 2 : Chromatogrammes HPLC-DAD des extraits de drêche obtenus par macération (24 h) .



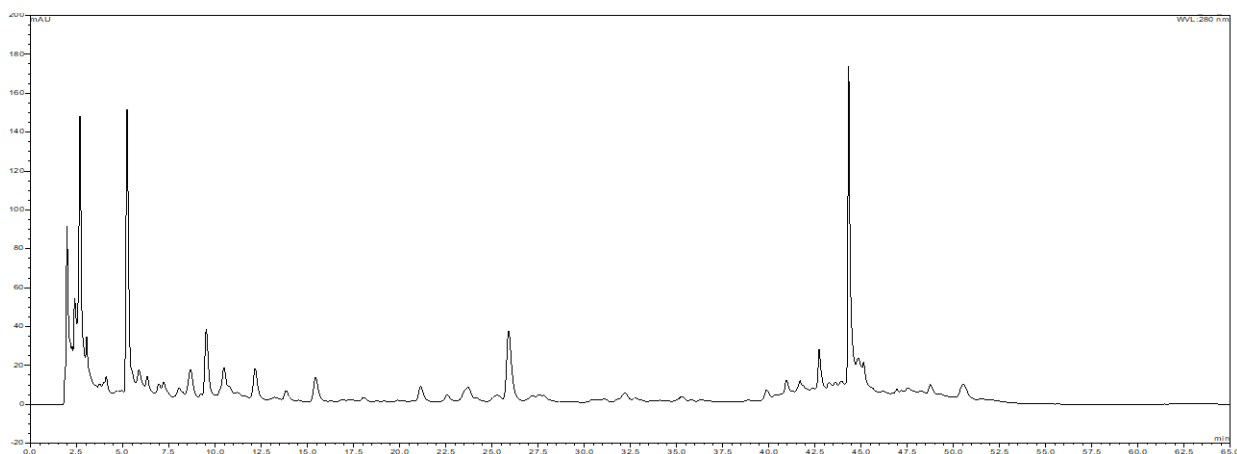
Chromatogramme de l'extrait obtenu avec l'éthanol



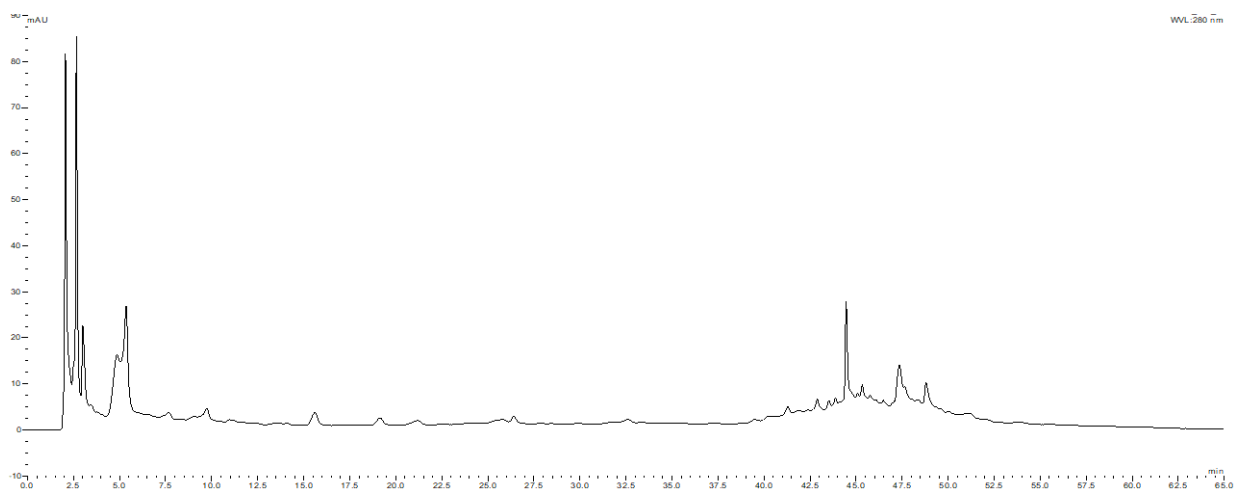
Chromatogramme de l'extrait obtenu avec l'acétate d'éthyle



Chromatogramme de l'extrait obtenu avec le mélange éthanol + eau

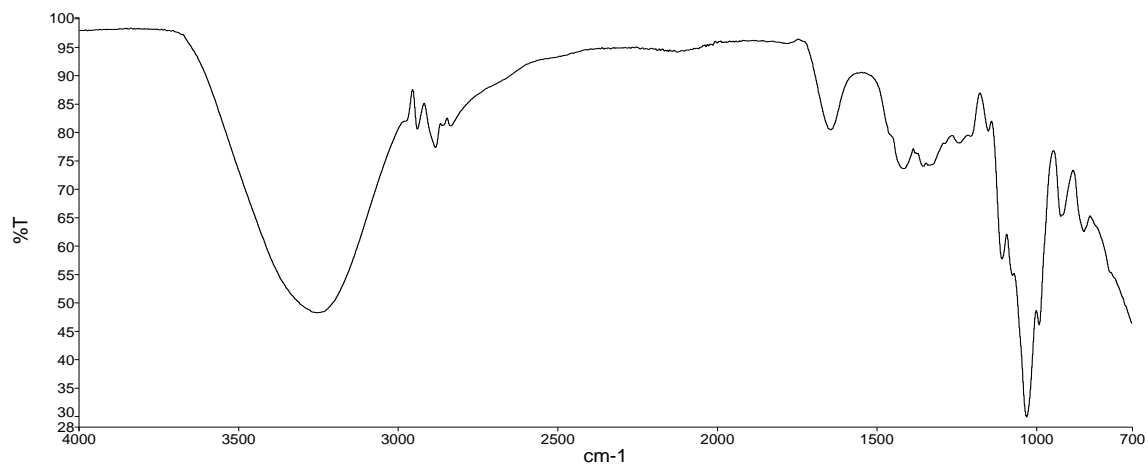


Chromatogramme de l'extrait obtenu avec le mélange éthanol + acétate d'éthyle

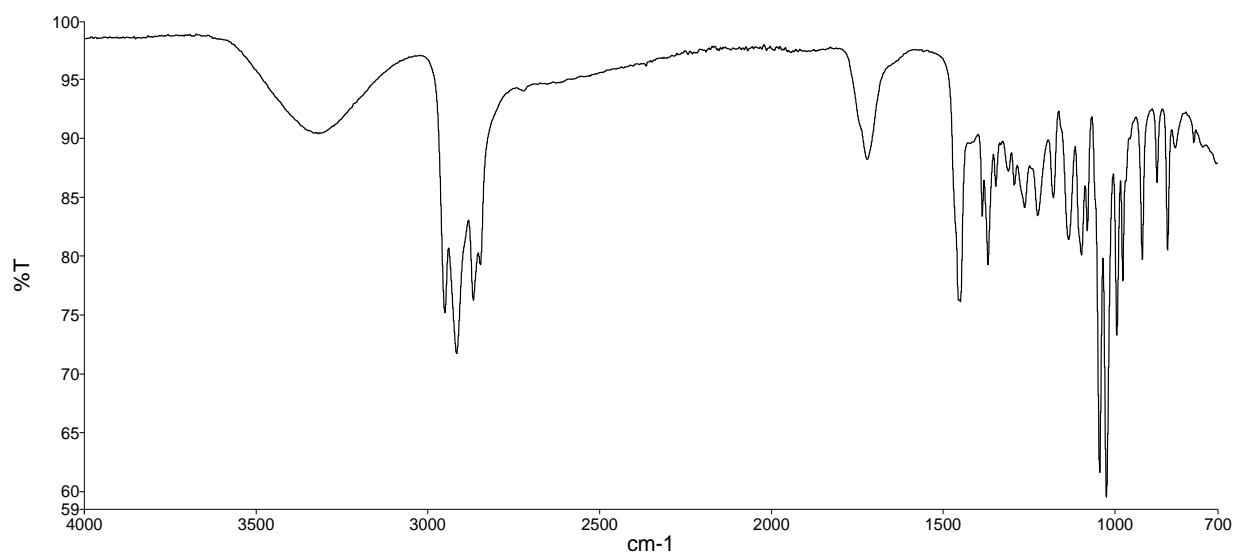


Chromatogramme de l'extrait obtenu avec l'éthanol après un prétraitement dans l'acétate d'éthyle

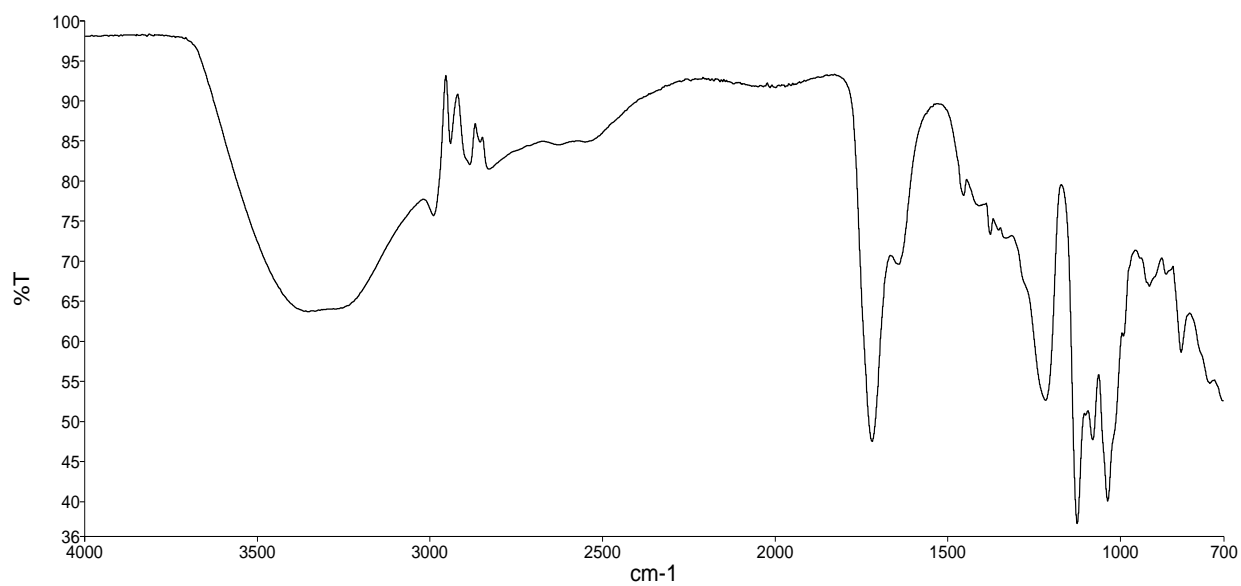
Annexe 3: Spectres infrarouges des solvants naturels eutectiques profonds (NaDES) synthétisés.



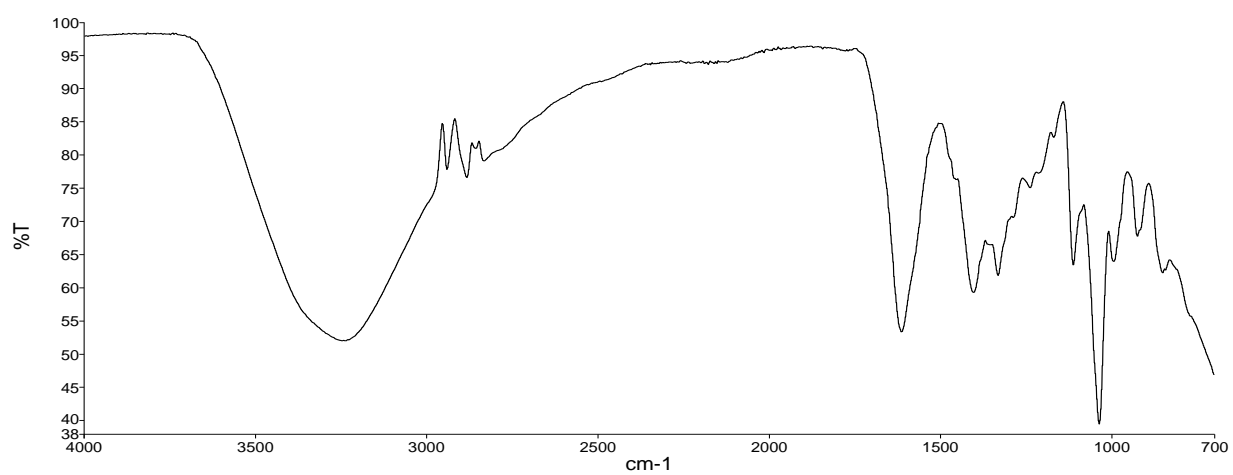
Spectre du NADES « glycérol/glucose » (DES 1).



Spectres du NaDES « DL-menthol/acide lactique » (DES 2).

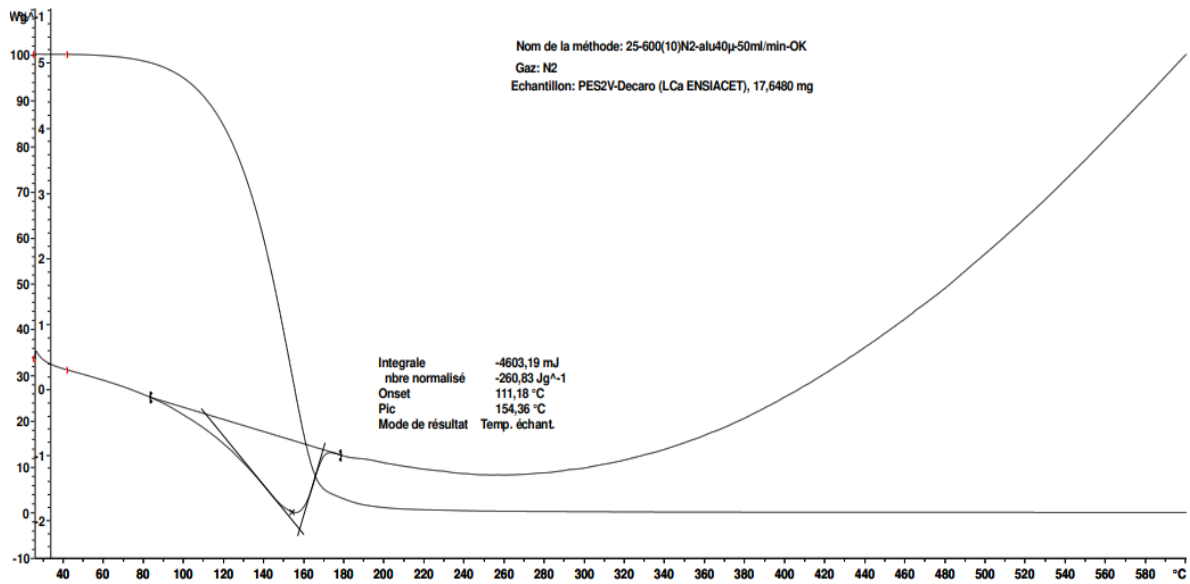


Spectre du NaDES « Glucose/acide lactique » (DES 3).

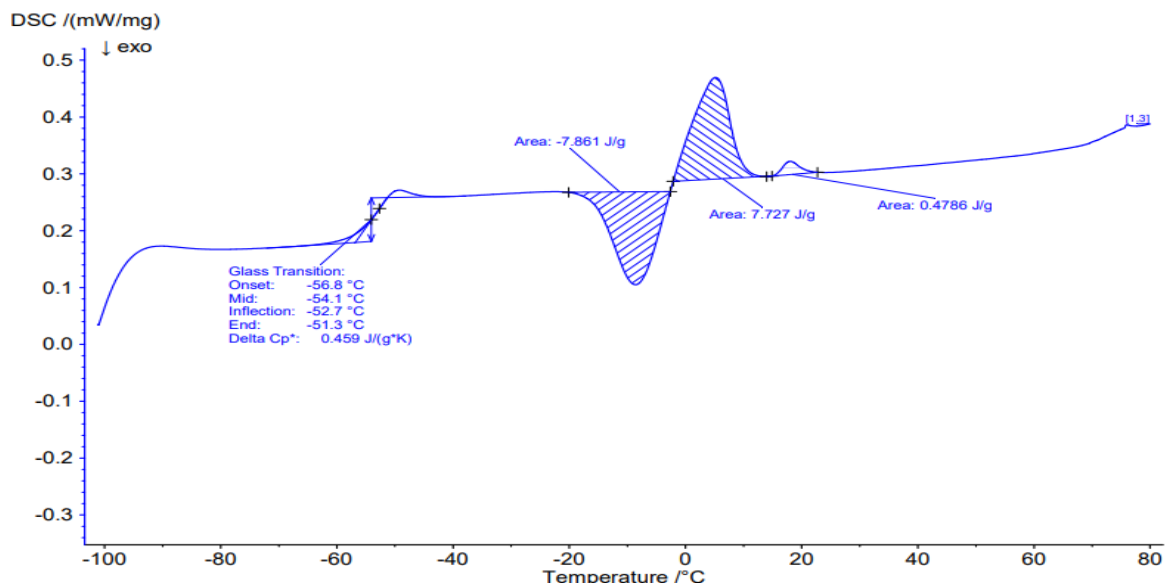


Spectre du NaDES « Glycérol/L-proline » (DES 4).

Annexe 4 : Analyses thermiques d'un NaDES synthétisé.



Analyse thermogravimétrique du NaDES « DL-menthol/acide lactique ».



Calorimétrie différentielle à balayage du NaDES « DL-menthol/acide lactique ».

Annexe 5 : Liste des travaux

Publications :

Aya Jamaledine, Pascale de Caro, Jalloul Bouajila, Philippe Evon, Juliano G. Haddad, Chaker El-Kalamouni, Akram Hijazi, Othmane Merah.

In Vitro Bioactivities of Extracts from Tomato Pomace. *Frontiers in Bioscience (Landmark Ed)*. 2022; 27(9): 259. DOI: <https://doi.org/10.31083/j.fb12709259>

Aya Jamaledine, Martine Urrutigoity, Jalloul Bouajila, Othmane Merah, Philippe Evon, Pascale de Caro.

Coupling between extraction and formulation of bioactive molecules for cosmetics application. Soumise au journal *Cosmetics*, Octobre 2022

Communication orale :

Aya Jamaledine, Jalloul Bouajila, Othmane Merah, Philippe Evon, Valérie Simon, Pascale de Caro.

Biorefining of tomato pomace: processes for obtaining molecules of biological interest and agromaterials. 18th International Conference on Renewable Resources and Biorefineries (RRB 18), 1-3 June 2022, Bruges, Belgique.

Doctoriales:

Aya Jamaledine, Protection des villes à forte chaleur, Présentation réalisée lors des doctoriales Occitanie, 21-26 Novembre 2021, Sète, France.